

Departement Pferde der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof.em. Dr. med. vet., Dr. h.c. Jörg A. Auer, MS,

Dipl. ACVS/ECVS

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)

Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

***Vergleich von zwei modifizierten dentalen Titanoberflächen mit
gleichem Makrodesign im Hinblick auf ihre osseointegrativen
Eigenschaften: Eine histologische und biomechanische Analyse
im Schafmodell***

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Vetsuisse Fakultät

Universität Zürich

vorgelegt von

Sabrina Ernst

Tierärztin

aus München (Deutschland)

Genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin

PD Dr. Steven Ferguson, Korreferent

Zürich 2011

Diese Dissertation widme ich Dir, liebe Mama.

England, Januar 2011

Summary	1
Zusammenfassung	2
1 Einleitung	3
1.1 Problemstellung	3
1.2 Ziel der Studie	4
2 Literaturübersicht	5
2.1 Periimplantäre Heilungsvorgänge	5
2.2 Möglichkeiten zur Modifikation der Oberfläche von Dentalimplantaten	7
3 Material und Methoden	12
3.1 Implantate	12
3.2 Gruppenverteilung Versuchstiere und Implantate	13
3.3 Tierversuchsbewilligung und Tiere	15
3.3.1 Tierversuch	15
3.3.2 Tiere	15
3.4 Operation	16
3.4.1 Vorbereitung zur Operation	16
3.4.2 Anästhesie	16
3.4.3 Chirurgischer Eingriff und intraoperative Resonanzfrequenzanalyse	17
3.4.4 Postoperative Versorgung	20
3.4.5 Einsetzen der Implantate am Kadaver	20
3.5 Fluoreszenzmarkierung	20
3.6 Probengewinnung	21
3.6.1 Schlachtung und makroskopische Beurteilung	21
3.6.2 Röntgen des isolierten Beckens	21
3.7 Resonanzfrequenzanalyse	22
3.8 Probenaufbereitung	22
3.9 Removal Torque Test	24
3.10 μ CT	24
3.11 Fluoreszenzmikroskopie	25
3.12 Histologie	26
3.13 Histomorphometrie	27

3.14	Elektronenmikroskop	27
3.15	Statistik	28
<hr/>		
4	Resultate	29
4.1	Operation und postoperative Phase	29
4.2	Befunde am Schlachtpräparat und Auswertung der Röntgenbilder	29
4.3	Resonanzfrequenzanalyse.....	30
4.4	Removal Torque Tests.....	34
4.5	Schnittbilder des μ CT	36
4.6	Mikroradiographien	38
4.7	Fluoreszenzschnitte	38
4.8	Histologische Auswertung der Dickschnitte	39
4.8.1	Qualitative Beurteilung der Dickschnitte	39
4.8.2	Ausmessen des BIC.....	39
4.8.3	Histomorphometrische Auswertung.....	44
4.9	Elektronenmikroskopaufnahmen.....	46
<hr/>		
5	Diskussion	48
5.1	Das ovine Beckenmodell zur Beurteilung der Osseointegration von Dentalimplantaten	50
5.2	Beurteilung der Ergebnisse der BIC Messung mittels μ CT	53
5.3	Beurteilung der Ergebnisse des Removal Torque Tests	54
5.4	Beurteilung und Diskussion der Ergebnisse der histologischen biomechanischen Auswertung hinsichtlich der Osseointegration der verglichenen Oberflächen	56
5.5	Bestimmung der Implantatstabilität mittels RFA als Methode zum experimentellen Vergleich von Oberflächen von Dentalimplantaten in der frühen Einheilphase.....	60
5.6	Beurteilung der Ergebnisse hinsichtlich des Ziels der Studie	64
<hr/>		
6	Literaturverzeichnis.....	65
<hr/>		
7	Anhang	71
7.1	Abbildungen	71
7.2	Abkürzungen	73
<hr/>		
8	Danksagung	74

Summary

Aim of this study was to compare two different commercial dental implant surfaces supported by the same implant design to prove the hypothesis of the relevance of their chemical surface modifications on the performance of early peri-implant endosseous healing.

In 6 mature sheep either implants (n=36) with a highly crystalline and phosphate-enriched anodized titanium oxide surface (type A), or implants with a hydrophilic, sand-blasted, large grit and acid-etched surface (n=36; type B) were placed in the iliac shaft of the pelvis.

After 0, 2, 4, 8 weeks both types of implants were analyzed by histological assessment of the bone-to-implant contact (BIC, n=6) using electron and light microscopy and biomechanical assessment by removal torque testing (n=6).

The implant stability quotient was measured after 0, 2, 4 and 8 weeks by Resonance Frequency Analysis (RFA).

Both implants proved excellent quality regarding osseointegration although there were differences concerning biomechanical properties that could not be confirmed by histological assessment. Comparing the 2 surfaces it was shown that type B had significantly higher torque values in the 4 weeks group than type A. On the other hand type A had significantly higher RFA.values in the 8 weeks group, while no significant differences could be shown in histological evaluations of BIC

The two surfaces showed comparable osseointegration in this sheep model.

Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war die vergleichende Beurteilung zweier Oberflächen von kommerziell erhältlichen Dentalimplantaten an formgleichen Implantatkörpern aus Reintitan hinsichtlich ihrer Osseointegration.

Dazu wurden 6 adulten Schafen Implantate (n=36) mit einer feinkristallinen anodisierten (Typ A) oder einer hydrophilen, sandgestrahl- säuregeätzten (Typ B) Oberfläche (n= 36) in das Os ilium des Beckens eingesetzt.

Nach 0, 2, 4 und 8 Wochen wurde bei beiden Implantattypen eine histologische Analyse des Bone-to-Implant-Contact (BIC, n=6) mittels Licht- und Elektronenmikroskopie, sowie eine biomechanische Analyse mittels Removal Torque Test (n=6) durchgeführt.

Der implant-stability-quotient (ISQ) wurde bei A und B nach 0, 2, 4 und 8 Wochen anhand der Resonanzfrequenzanalyse (RFA) ermittelt.

Beide Implantattypen bewiesen ausgezeichnete Eigenschaften hinsichtlich Osseointegration in diesem Tiermodell, und obwohl sich Unterschiede in der biomechanischen Analyse zeigten, konnten diese in den histologischen Untersuchungen nicht bestätigt werden.

Bei vergleichender Betrachtung zeigte Typ B signifikant höhere Torquewerte in der 4 Wochengruppe als Typ A, während Typ A in der RFA der 8 Wochengruppe signifikant höhere Werte zeigte als B.

In allen histologischen Analysemethoden konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen A und B ermittelt werden.

Hinsichtlich des Ziels der Studie zeigten beide Implantattypen gleichwertige Eigenschaften bezüglich ihrer Fähigkeit zur Osseointegration.

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

In Deutschland allein wurden im Jahre 2009 ungefähr eine Million Zahnimplantate in Patienten eingesetzt. Das sind viermal so viele Implantate wie noch vor sieben Jahren¹. Der wachsende Bedarf und die hohe Nachfrage an qualitativ hochwertiger zahnmedizinischer Versorgung lässt auch in Zukunft einen enormen Absatzmarkt von dentalen Implantaten erwarten. In den letzten Jahren zeichnet sich in der internationalen Implantatbranche eine zunehmende Entwicklung und Vermarktung von speziell mikrostrukturierten und chemisch modifizierten Oberflächen ab, die eine verbesserte Osseointegration im Kieferknochen und damit Langzeiterfolg der Implantate gewährleisten sollen^{2,3}.

Allerdings erschwert die große Zahl verschiedener Implantatsysteme und Implantatdesigns objektive, wissenschaftliche Vergleiche. So gibt es zum gegenwärtigen Zeitpunkt mehr als ca. 600 verschiedene Implantattypen und -designs mit jeweils spezifischer und unterschiedlicher Makro-, Mikro- und Nanostruktur auf dem Markt⁴. Eine Gegenüberstellung von Implantaten verschiedener Form und Größe lässt den Einfluss der Geometrie und Makrodesigns des Implantats auf die Osseointegration außer Acht und kann somit zu keiner validen Aussage über den direkten Einfluss der Implantatoberfläche auf die Geschwindigkeit und den Erfolg der Osseointegration führen. Experimentelle Studien, in denen chemisch modifizierte Oberflächen mit mittlerer Rauigkeit mit, speziell funkenanodisierten, wie in der vorliegenden Studie Typ A oder sandgestrahlte säuregeätzten Oberflächenmodifikationen, die Typ B unserer Studie sehr ähnlich sind, verglichen worden sind, wurden nach unserem Kenntnisstand immer an Implantaten unterschiedlicher Geometrien durchgeführt.⁵⁻¹⁰ Um ausschließlich die Auswirkungen der Implantatoberfläche auf die Osseointegration zu bewerten und andere Einflussfaktoren wie z.B. Anzahl und Steigungsgrad der Implantatwindungen, konisches oder parallelwandiges Makrodesign oder Bohrprotokoll zu eliminieren entschied man sich in der vorliegenden Studie für Implantate von gleicher Form und Größe.

In der vorliegenden Studie werden so erstmals zwei kommerzielle Oberflächenmodifikationen in einem Modell mit identischer Implantatschraubengeometrie verglichen und sowohl einer biomechanischen, als auch einer ausführlichen histologischen Auswertung unterzogen.

1.2 Ziel der Studie

Es war das Ziel dieser Studie, den Einfluss von zwei unterschiedlichen Oberflächenmodifikationen dentaler Titanimplantate auf den Osseointegrationsprozess nach zwei, vier und acht Wochen vergleichend zu beurteilen. Dafür wurde für beide Implantattypen ein identisches Makrodesign (gleiche Form und Größe) gewählt um den Einfluss der individuellen Schraubengeometrie auf den Einheilungsprozess sicher ausschließen zu können. Verwendet wurden aber zwei unterschiedlich modifizierte Oberflächen. Die Implantatkörper hatten eine Länge von 10mm, einen Durchmesser von 4,1mm und waren zylindrisch geformt. Als Oberflächenmodifikationen wurde einerseits eine trockene, durch Funkenanodisierung hergestellte, feinkristalline, mit Phosphationen angereicherte, mikroporöse Titanoberfläche (TiUnite®, Nobel Biocare, Göteborg, Schweden), zu sehen in Abbildung 1, sowie eine sandgestrahlte, säuregeätzte und mit hydrophilen Eigenschaften ausgestattete feuchte Oberfläche (SLActive®, Straumann AG, Basel, Schweiz), zu sehen in Abbildung 2, verwendet. Während für die TiUnite® Implantate (Typ A) eine Spezialanfertigung des Makrodesigns analog der Implantate vom Typ B verwendet wurde, konnte für die SLActive Implantate (Type B) das original bone-level-design verwendet werden. Im Zuge einer umfassenden Bewertung wurden dabei eine Resonanzfrequenzanalyse, Ausdrehversuche (Torque-out), polychrome Fluoreszenzmarkierung, drei verschiedene Methoden zur Ermittlung des Knochen-Implantat-Kontakts (Mikrocomputertomographie, Backscatter Elektronenmikroskopie, Lichtmikroskopie) und Histomorphometrie durchgeführt. Um die Verhältnisse im periimplantären Knochen unmittelbar nach der Implantation bei A und B darzustellen und die Primärstabilität zu erfassen wurden Kadavertests als „null Wochengruppe“ durchgeführt.

Die Implantate A und B wurden jeweils nach zwei, vier und acht Wochen miteinander verglichen um vor allem die Frühphase der Osseointegration beurteilen zu können.

2 Literaturübersicht

2.1 Periimplantäre Heilungsvorgänge

Aktuelle Vorstellungen über die Knochenbiologie sind auf den Thesen von Marshall Urist aufgebaut, die dieser amerikanische Wissenschaftler im Jahre 1952 aufgestellt hatte¹¹. Makroskopisch betrachtet kann man den Heilungsvorgang am Knochen in verschiedene Phasen einteilen, welcher mit der Bildung eines Hämatoms beginnt, das im Laufe der Heilung durch zelluläre Vorgänge wieder langsam resorbiert wird. Danach wandern osteogene Zellen in das entsprechende Gebiet ein und fangen schließlich an dort Knochenmatrix zu produzieren¹². Die Bildung neuer Knochenmatrix besteht aus einer Abfolge zahlreicher molekularer Vorgänge, in dessen Verlauf eine funktionelle und strukturelle Einheit geschaffen wird¹³. Dabei unterscheiden sich die Heilungsvorgänge bei Frakturheilung nur wenig von denen, welche an einer Implantatoberfläche stattfinden.

Die Bildung von Knochenmatrix an einer künstlichen Oberfläche kann nur stattfinden, wenn pluripotente Vorläuferzellen der Umgebung dazu angeregt werden sich in eine Knochenzelllinie zu entwickeln. Lagern sich undifferenzierte Mesenchymzellen mittels Integrine an negativ geladenen, zellkonduktiven Plasmaproteinen wie Fibronectin und Vitronectin an, bezeichnet man diesen Vorgang als Osseinduktion¹⁴⁻¹⁷. Dabei werden Fibronectin und Vitronectin über Calcium- und Phosphationen an die Oxidschicht der Titanoberfläche gebunden¹⁸. Es ist eine charakteristische chemische Eigenschaft von Titan, bei Kontakt mit Sauerstoff eine Oxidschicht an der Oberfläche auszubilden. In Gang gesetzt wird die Osseinduktion unter anderem durch das Bone Morphogenic Protein (BMP), das zu den Wachstumsfaktoren der Transforming Growth Factor (TGF β) Familie gehört und sowohl chemotaktisch als auch mitogen wirkt¹⁹⁻²¹. Nach Adhäsion mithilfe der Plasmaproteine und chemotaktisch angelockt durch Wachstumsfaktoren differenzieren sich die mesenchymalen Vorläuferzellen zu Präosteoblasten. Dieser grundlegende physiologische Vorgang findet im Körper sowohl während der Frakturheilung, als auch der periimplantären Knochenheilung statt und tritt im Zusammenhang mit allen Heilungsvorgängen des Knochengewebes auf.

Die Fähigkeit der Präosteoblasten sich weiter in funktionelle Osteoblasten zu entwickeln ist abhängig von der lokalen Sauerstoffspannung²², dem Vorhandensein von Zytokinen und Wachstumsfaktoren sowie der ausreichenden Versorgung mit Nährstoffen²¹. Deswegen ist eine entsprechende Vaskularisierung des betreffenden Knochengewebes essentiell für die Osseinduktion. Der sich schließlich neu bildende Knochen wird in den ersten vier bis sechs Wochen nach dem initialen Trauma, bzw. dem Einbringen des Implantats, vorrangig von

Geflechtknochen dominiert und wandelt sich erst nach acht Wochen in lamellären Knochen um. Auf diese Art ordnen sich die ursprünglich ungerichtet verlaufenden Kollagenfasern des Knochengewebes entsprechend den auf sie einwirkenden Zug- und Scherkräften an der Implantatoberfläche an und können so einer funktionellen Belastung standhalten²³.

Im Gegensatz dazu beschreibt Osseokonduktion die Bildung von neuem Knochen auf Implantatoberflächen²⁰, auf der vorher kein Knochenmaterial zu finden war. Dazu sind differenzierte Knochenzellen nötig, die in der Lage sind Knochenmatrix zu produzieren. Diese Osteoblasten müssen jedoch erst durch osseoinduktive Vorgänge aus ihren primitiven mesenchymalen Vorläuferzellen rekrutiert werden und sich zum Osteoblasten differenzieren^{24,25}. Die Osseokonduktion ist somit in erheblichem Masse von ihr vorausgehenden, osseoinduktiven Vorgängen abhängig²⁰. Wenn die Oberfläche, auf der die Knochenmatrix gebildet werden soll, aus einem gar nicht oder nur wenig biokompatiblen Material wie Kupfer oder Silber besteht, kann es nicht zur Osseokonduktion kommen²⁶. Dagegen ist Reintitan ein Material mit ausgezeichneter Biokompatibilität. Daher wird es in der Implantologie am meisten verwendet. Dabei ist die Oxidschicht, die Titan beim Kontakt mit Sauerstoff auf seiner Oberfläche ausbildet, verantwortlich für die ausgezeichnete Verträglichkeit dieses Metalls im Knochengewebe^{27,28}.

Neben den osseoinduktiven und osseokonduktiven Prozessen spielt in der dentalen Implantologie vor allem die Osseointegration eine große Rolle. Die Osseointegration wurde in den siebziger Jahren als erstes von Brånemark, einem schwedischen Wissenschaftler, beschrieben²⁹. Er hatte beobachtet, dass sich zu Versuchszwecken in Kaninchen eingebrachtes Titan so eng mit dem Knochen verband, dass es nur noch schwer zu entfernen war. Brånemark war es auch, der diese Eigenschaften von Titan für die Zahnheilkunde zugänglich machte und 1965 das erste Schraubenimplantat aus Titan in den Kiefer eines Patienten einsetzte¹. Den Begriff der Osseointegration definierte Brånemark als direkte, strukturelle und funktionelle Verbindung zwischen lebendem Knochen und einem einer Belastung ausgesetzten Implantat im Sinne einer „funktionellen Ankylose“³⁰. Das Implant-Knochen-Interface wird dabei unter lichtmikroskopischer Analyse beurteilt. Durch die mangelnde Übertragbarkeit dieser Definition auf die klinische Situation am Menschen wurde eine Beschreibung vorgeschlagen, die mehr den biomechanischen Aspekt beleuchtet. Hier wird Osseointegration als Prozess beschrieben, bei dem Knochen eine klinisch symptomfreie, feste Verbindung zu einem alloplastischen Material eingeht, die zudem funktionell belastbar ist und diese beibehalten wird³¹. Diese Art der Verankerung des Implantats im Knochen ist die einzige, mit der ein Zahnimplantat dauerhaft und stabil im Kiefer des Menschen hält. Im

menschlichen Oberkiefer, der vor allem aus spongiösem Knochen besteht ist der Implantat-Knochenkontakt am Interface meistens etwas geringer und liegt bei einer klassischen lichtmikroskopischen Untersuchung der Knochenkontaktlinie bei 50% oder mehr. Im menschlichen Unterkiefer, der eher kortikal aufgebaut ist, liegt der Prozentsatz von 75% meistens deutlich höher³². Zur Beurteilung der Osseointegration im Tiermodell, wird die histologische Evaluierung als Standardmethode angesehen^{33,34}. In diesem Zusammenhang wird eine möglichst dicke periimplantäre Schicht von lamellärem Knochen als Erfolgskriterium für ein osseointegriertes Implantat angesehen. Es wurde allerdings festgestellt, dass auf ultrastruktureller Basis nicht die mineralisierte Knochenmatrix den direkten Kontakt zwischen Knochen und Implantat herstellt, sondern sich eine 20 bis 500nm dünne Schicht einer nicht näher definierten Substanz am Implantatinterface bildet³². Weiterführende Untersuchungen sind nötig, um die zellulären Interaktionen zwischen Knochen und Implantatoberfläche auch hinsichtlich der Vorgänge im Nanometerbereich besser verstehen zu können.

2.2 Möglichkeiten zur Modifikation der Oberfläche von Dentalimplantaten

In der dentalen Implantologie hat sich Titan als das Implantatmaterial der ersten Wahl durchgesetzt. Dieses Metall gilt als sehr biokompatibel und geht aufgrund der im Nanometerbereich liegenden dicken Oxidschicht, die es beim Kontakt mit Wasser und Sauerstoff bildet, mit dem Knochen eine dauerhaft stabile Verbindung ein^{27,28}.

Mit dem Ziel, die Osseointegration zu beschleunigen, wird die Oberfläche von Zahnimplantaten auf verschiedene Art und Weise modifiziert. Die Zeit, die der Organismus braucht, um neue Knochenmatrix zu bilden ist physiologisch vorgegeben und lässt sich nur in einem gewissen Rahmen verkürzen. Daher wurde der Fokus darauf gelegt, für die Osseointegration negative Bedingungen im Gewebe zu minimieren und dafür das optimale Implantatmaterial zu wählen²⁰. Hierzu wird die Oberfläche des Implantates so modifiziert, dass die Knochenzellen dort die bestmöglichen Bedingungen vorfinden können. Die Eigenschaften der Oberfläche eines Zahnimplantates spielen eine entscheidende Rolle für die Kurz- und Langzeitstabilität eines Implantates, da die Oberfläche direkt mit dem Knochengewebe interagieren muss³⁵⁻³⁷. Zu den wesentlichen Faktoren, die das Verhalten der Oberfläche des Implantats bezüglich des Knochengewebes beeinflussen, sind die

Oberflächenmorphologie^{21,32,38}, Oberflächentopographie^{38,39}, die chemische Zusammensetzung der Oberfläche⁴⁰, die Oberflächenenergie⁴¹⁻⁴³ und die auf die Oberfläche einwirkende Belastung^{44,45} von primärer Bedeutung.

Ein Implantat mit schraubenförmigem Gewinde und rauer Oberfläche hat im Knochen bereits unmittelbar nach dem Einsetzen eine gewisse mechanische Stabilität, die sogenannte Primärstabilität, die durch das traumatisch bedingte periimplantäre Blutgerinnsel und passgenaues Einsetzen in die Kortikalis unterstützt wird⁴⁶. Erst wenn sich neue Knochenmatrix am Interface des Implantats gebildet hat, erreicht das Implantat eine sekundäre Stabilität⁴⁶, die schließlich nahtlos in die Osseointegration übergeht. Die zwischen Primär- und Sekundärstabilität liegende Lücke, die sich durch Knochenresorption im Zeitraum von zwei bis vier Wochen post operationem auszeichnet, gilt als die kritische Phase des Einheilungsprozesses von Dentalimplantaten und soll durch geeignete Oberflächenmodifikationen der Implantate verkürzt werden¹³.

Die Mikrorauigkeit einer Oberfläche kann die Zellmigration fördern und die Osseokonduktion positiv beeinflussen. Eine Oberfläche mit einer Rauigkeit von über 1,5µm zeigt ein stärkeres Knochen Remodelling als eine glatt polierte oder noch rauere, plasmagesprühte, Oberfläche³⁸. Bei Rauigkeiten von mehr als 2µm kommt es zu vermehrtem Auftreten von Periimplantitis, also einer entzündlich-bedingten Resorption des periimplantären Knochens in Langzeitstudien³⁸. Bei einer Rauigkeit von 1-2µm gilt eine Oberfläche in diesem Zusammenhang als moderat rau³⁸. Beide in der hier vorliegenden Studie verwendeten Implantate fallen in die letzte Kategorie.

Seit Brånemarks Entdeckung der Osseointegration von Titan in Knochengewebe und der Nutzung dieser Erkenntnis zur Entwicklung der dentalen Implantologie wurden zahlreiche Möglichkeiten gefunden, die Oberfläche eines Dentalimplantats hinsichtlich einer beschleunigten Osseointegration zu verbessern. Die verschiedenen Varianten können hier nur ansatzweise besprochen werden und sind in der aktuellen Literatur ausführlich beschrieben vorzufinden^{38-40,47,48}.

In der Anfangszeit der Implantologie wurden die Implantatkörper nach dem Herausfräsen aus dem Metallblock lediglich gereinigt und dann unter sterilen Kautelen verpackt. Durch das Herstellungsverfahren ergab sich eine glatte Oberfläche, die nur wenige maschinell bedingte Unebenheiten auf ihrer Oberfläche hatte. Es dauerte Monate, bis diese Implantate im Kiefer osseointegriert waren⁴⁷. Diese glatte Oberfläche war jahrzehntelang der Goldstandard in der Implantologie und gilt in der Literatur als am besten untersucht⁴⁹. Mit der Zeit wurde deutlich, dass mit einer rauerer Oberfläche höhere BIC -Werte gemessen werden konnten und

schon nach wenigen Wochen eine bessere biomechanische Stabilität am Interface beobachtet werden konnte³⁸. Aufgrund dieser Studien haben heutzutage die meisten kommerziell erhältlichen Dentalimplantate eine Rauigkeit von $R_a = 1-2\mu\text{m}$, die auf unterschiedliche Arten im Herstellungsverfahren erreicht werden können. Eine Möglichkeit der Titanoberfläche eine Struktur zu verleihen ist das Titan-Plasma-Sprühverfahren. Dabei wird unter Hitzeeinwirkung Titanstaub mit Hochdruck durch einen Plasmabrenner gepresst und diese Partikel dann direkt auf die Implantatoberfläche geschleudert. Dort verschmelzen die einzelnen Partikel miteinander und bilden schließlich eine 40-50 μm dicke Schicht⁴⁰. Es konnte gezeigt werden, dass diese so genannte TPS Oberfläche die Stärke der Verbindung zwischen Knochen und Implantat verbessern konnte im Vergleich zu glatteren Oberflächen³⁵. Allerdings scheinen sich die Titanpartikel unter Umständen von der Implantatoberfläche lösen zu können, denn sie konnten im periimplantären Knochengewebe nachgewiesen werden⁵⁰.

Eine Möglichkeit, die Oberfläche hinsichtlich einer optimalen Osseointegration zu verändern ist es, das Implantat Sand zu strahlen und anschließend in einem Säurebad zu ätzen. Dabei wird die Oberfläche durch Sandkörner aufgaut. Die Sandpartikel werden mit Druckluft unter hoher Geschwindigkeit auf das Implantat geschossen und schlagen dort winzige Dellen (Abb. 2). Dabei lässt sich die Größe der Dellen durch die Größe der Sandpartikel bestimmen. Im anschließenden Säurebad entstehen zusätzlich zu den Dellen noch kleinere Ätzgruben. Die Osteokonduktivität kann durch ein anschließendes, so genanntes duales Säurebad aus Salz- und Schwefelsäure noch weiter verbessert werden⁵¹. Im periimplantären Knochen konnte beschrieben werden, dass bei Implantaten mit einer derart modifizierten Oberfläche dünne Trabekel von Geflechtknochen direkt an das Implantat ausstrahlen⁵². Zusätzlich kann ein Verfahren angewendet werden, bei dem die Oberfläche des Implantates nach dem Säurebad unter einer stickstoffhaltigen Schutzgasatmosphäre hydrophil gemacht wird, ohne die Topographie und damit den Grad der Rauigkeit zu ändern⁴¹. Dieses Verfahren führt letztendlich zu einer stabilen Hydroxylierung der Titanoxide auf der Implantatoberfläche. Es wird angenommen, dass Implantate von hydrophilen Oberflächen hinsichtlich ihrer Osseointegration profitieren könnten, indem weniger Fremdkörperreaktionen am Interface stattfinden und so für die Produktion von Knochenmatrix ideale Bedingungen im Gewebe geschaffen werden können⁵³. Eine hydrophobe Oberfläche kann im Gegensatz dazu zu reduzierter Proteinadsorption am Interface führen⁵⁴. Eine hohe Oberflächenenergie scheint dagegen Proteine dazu zu bewegen eine erste Schicht um das eingesetzte Implantat zu bilden⁵⁵. Titanoxid wird in der Umgebungsluft sofort mit Kohlenstoffverbindungen kontaminiert, was die Oberflächenenergie und somit auch die Hydrophilie herabsetzt.

Außerdem könnten Moleküle aus der Umgebungsluft in den kleinen Gruben der Oberfläche hängen bleiben und so die Fläche reduzieren, die später den Knochenzellen als Haftgrundlage dienen soll⁴¹. Am Tiermodell wurde bereits bewiesen, dass die Eigenschaften dieser hydrophilen, sandgestrahlt-säuregeätzten Oberfläche, im Gegensatz zur gleichen, nicht hydrophil gemachten Oberfläche die Einheilphase in erheblichem Masse positiv beeinflussen⁵⁶⁻⁵⁸.

Eine andere Methode, mit der man eine verbesserte Osseointegration erreichen kann ist die Funkenanodisierung im Säurebad. Bei den hierfür verwendeten Säuren finden sich Salpetersäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure und Fluorwasserstoffsäure⁴⁰. In vielen Studien wurde bewiesen, dass eine Modifikation der Oberfläche von Dentalimplantaten durch Oxidation mittels Anodisierung zu einer besseren Biokompatibilität führt als eine polierte Oberfläche⁵⁹⁻⁶³. Bei der Anodisierung wird die Dicke der Oxidschicht an der Spitze des Implantats auf über 1000nm erhöht und es entsteht eine mikroporöse Struktur (Abb. 1). Am restlichen Implantat befindet sich eine relativ dünne Oxidschicht von nur wenigen hundert Nanometern. Eine porenförmige Oberfläche stimuliert die Zellwanderung und induziert die Kontakt Osteogenese. Die Größe der Poren und Strukturierung des Mikrodesigns scheint zu bestimmen, in welchem Ausmaß das geschieht^{64,65}. So wurde berichtet, dass Poren, die deutlich größer sind als 1µm direkt das Knochenwachstum und die Ablagerung von Knochenmatrix in die Poren fördern und dementsprechend die Stabilität des Implantats bestmöglich beeinflussen können⁶⁶.

Das roh gefertigte Titanimplantat wird in einer Galvanischen Zelle einer Redoxreaktion unterzogen. Dies geschieht in einem Elektrolytbad, das unter anderem Phosphorsäure enthält. Bei diesem chemischen Vorgang bildet sich eine Oxidschicht auf dem Implantat. Wird die Spannung an der Anode dann weiter erhöht kommt es zum Funkenschlag und die dabei frei werdende Energie führt zu lokalem Aufschmelzen der Oberfläche. Dadurch entstehen viele kleine Mikroporen auf dem Implantat⁶⁷⁻⁷⁰. Bei dieser Modifikation verändert sich nicht nur die Rauigkeit der Oberfläche, sondern es entsteht auch eine feinkristalline Struktur innerhalb der Oxide auf dem Titan, da die Ionen des Säurebades teilweise in die Oxidschicht eingebettet werden. Im Fall der Anodisierung mit Phosphorsäure sind das Phosphat-Ionen⁷¹. Die hervorragende Osseointegration dieser so modifizierten Oberfläche rührt vom mechanischen Andocken des Knochengewebes in den einzelnen Poren und den daraus entstehenden biochemischen Verbindungen her^{68,72}. Die Größe der bei der Anodisierung entstehenden Poren lässt sich durch die angelegte Spannung, die Säurezusammensetzung und die Stromstärke im Bad stattfindenden Ladungsverschiebungen beeinflussen.

Unter der Vielzahl der erhältlichen Dentalimplantate in verschiedenen Größen, Formen und Anwendungssystemen gestaltet sich ein wissenschaftlicher Vergleich im Bezug auf die Fähigkeiten der jeweils vorhandenen Oberfläche zur möglichst schnellen Osseointegration schwierig. Es gibt nach unserem Kenntnisstand bisher keine Studien, die chemisch unterschiedlich modifizierte Oberflächen von Dentalimplantaten an formgleichen Implantatkörpern vergleichen.

3 Material und Methoden

3.1 Implantate

Um ausschließlich den Einfluss unterschiedlicher Oberflächen auf die Osseointegration von Dentalimplantaten zu untersuchen und weitere Einflussfaktoren zu minimieren, wurden für den Versuch zwei Implantattypen mit identischem Makrodesign (Typ A und Typ B) herangezogen, die sich lediglich in ihrer Beschichtung unterschieden (siehe Tabelle 1).

Beide Implantate besitzen die gleiche, parallelwandige Geometrie mit einem Durchmesser von 4,1mm und einer Länge von 10 mm (Bone Level Design). Das verwendete Material ist Reintitan.

Tabelle 1: Eigenschaften Implantattypen

	Oberfläche	Material	Größe	Design
Typ A	TiUnite®	Titan	4,1x 10mm	Bone Level
Typ B	SLActive®	Titan	4,1x 10mm	Bone Level

Implantat Typ A wies eine funkenanodisierte Oberfläche auf (TiUnite®, Nobel Biocare®, Göteborg, Schweden) und wurde bezüglich des Makrodesigns als Prototyp eigens für die Studie hergestellt. Die Oberfläche dieses Implantattyps wurde im Herstellungsprozess der so genannten anodischen Oxidation unterzogen resultierend in einer feinkristallinen Struktur mit unzähligen kleinen Poren, die als mikroporöse Oberfläche bezeichnet wird (Abb. 1). Die Struktur auf der Oberfläche des Implantats bewegte sich in einer Porengröße von bis zu 10µm. Die passende Einheitschraube war über ein Sechskant Innengewinde mit dem Implantat verbunden.

Implantat Typ B (kommerziell erhältlich) hat eine sandgestrahlte, säuregeätzte Oberfläche (SLActive®, Straumann® Bone Level Implantat, Straumann®, Basel, Schweiz). Durch das Sandstrahlen entstehen kleine Höhlen mit einem Durchmesser von 20-40µm, die von kleinen, durch das Ätzen entstandenen 0,5-3µm weiten Gruben überlagert werden (Abb. 2). Der Prozess der Oberflächenmodifizierung erfolgt nach Angaben des Herstellers unter einer Stickstoff-Atmosphäre. Bis zum Einsetzen in den Kiefer werden die Implantate in einer isotonischen Kochsalzlösung aufbewahrt, um einen Kontakt mit Molekülen aus der Umgebung zu verhindern. Die Verpackung des Implantates in eine Plastikampulle mit isotonischer Kochsalzlösung findet ebenfalls in einer Stickstoff Schutzatmosphäre statt. Laut

Hersteller bekommt die Oberfläche dieses kommerziell erhältlichen Implantates durch ihr spezielles Herstellungsverfahren hydrophile Eigenschaften zur schnelleren Induktion der Osseointegration (SLActive®, Straumann® Bone Level Implantat, Straumann, Basel, Schweiz). Die passende Einheitschraube ist über ein vierkant Innengewinde mit dem Implantat verbunden.

3.2 Gruppenverteilung Versuchstiere und Implantate

Für die Studie wurden sechs Schafe in drei Gruppen zu je zwei Schafen eingeteilt. Für jede Gruppe war vorher die Dauer der Einheilphase der Implantate festgelegt worden. So wurden je zwei Schafe nach zwei, vier Wochen und acht Wochen post operationem getötet.

Jedem Versuchstier wurden insgesamt 12 Implantate ($n=12$) in das Becken eingesetzt, davon sechs Implantate in das rechte Os ilium und sechs Implantate in das linke Os ilium⁷⁷. Aus jeder Beckenhälfte wurden gleich viele Implantate ($n=6$) für die histologische Auswertung, und den Torque Test herangezogen. In jedes Os ilium wurde zudem die gleiche Anzahl unterschiedlicher Implantattypen eingebracht. Die Verteilung von Implantat Typ A und Typ B auf die einzelnen Positionen erfolgte nach einem vor Versuchsbeginn festgelegten, randomisierten Implantationsschema. Die Gesamtzahl der in die Versuchstiere operativ eingesetzten Implantate betrug $n=72$.

Tabelle 2: Anzahl (n) der verwendeten Implantate und Einheilphasen

	Dauer Einheilphase		
Implantat	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen
Typ A	$n = 12$	$n = 12$	$n = 12$
Typ B	$n = 12$	$n = 12$	$n = 12$
Gesamt	$n = 24$	$n = 24$	$n = 24$

An jedem Versuchstier sollte an allen 12 eingesetzten Implantaten die Implantatstabilität anhand einer Resonanzfrequenzanalyse (RFA) intra operationem und post mortem durchgeführt werden. Von diesen 12 Implantaten waren dann jeweils sechs für den Torque Test und sechs für die histologische Auswertung vorgesehen. Im Rahmen der histologischen Auswertung sollten folgende Methoden angewendet werden: Histomorphometrie, Bestimmung des Bone-to-Implant-Contact (BIC) mittels Lichtmikroskopie, Mikroradiografien, Fluoreszenzmikroskopie, Mikrocomputertomographie (μ CT) und

Bestimmung des BIC mittels Elektronenmikroskopie. Für die biomechanische Auswertung war neben der RFA ein Torque Test vorgesehen.

Tabelle 3: Anzahl der Proben aufgeschlüsselt nach angewandten Methoden

Implantat	Auswertung	2 Wochen (Probenanzahl)	4 Wochen (Probenanzahl)	8 Wochen (Probenanzahl)
Typ A	RFA	12	12	12
	Histologie	6	6	6
	Torque Test	6	6	6
Typ B	RFA	12	12	12
	Histologie	6	6	6
	Torque Test	6	6	6

Um die Verhältnisse an Knochen und Implantat unmittelbar nach dem Einsetzen des Implantats nachvollziehen zu können wurde ein Kadavertest am Schlachtknochen durchgeführt. Die Ergebnisse dieses Versuchs sollten als Nullwert im Vergleich zu den Werten nach zwei, vier und acht Wochen dienen. Eingbracht wurden die Null-Implantate in das Becken eines frisch geschlachteten Schafes. Aus Kostengründen wurde eine geringere Anzahl an Implantaten verwendet als für den Versuch am lebenden Tier, aber trotzdem wieder eine gleiche Anzahl (n=3) beider Implantattypen für jede Auswertungsmethode.

Tabelle 4: Probenanzahl Kadavertest zur 0-Wert Bestimmung

Methode	Typ A	Typ B
LM BIC	3	3
BSEM BIC	2	2
Histomorphometrie	3	3
µCT	1	1
RFA	6	6
Torque Test	6	6
Gesamt	21	21

3.3 Tierversuchsbewilligung und Tiere

3.3.1 Tierversuch

Die vorliegende Studie wurde am 29.7.2009 mit der Bewilligungsnummer 125/2009 durch das kantonale Veterinäramt Zürich genehmigt. Die Erlaubnis zur Durchführung des Tierversuchs wurde entsprechend den Vorgaben des Schweizer Tierschutzgesetzes, sowie der Schweizer Tierschutzverordnung erteilt (Art. 13a eidg. TSchG; Art. 60 bis 62 eidg. TSchV) .

3.3.2 Tiere

Die ausgewählten Versuchstiere (n= 6) waren weibliche, adulte Schafe der Rassen „weißes Alpenschaf“, „braunköpfiges Fleischschaf“ und „schwarzes Bergschaf“. Sie hatten ein Gewicht von durchschnittlich 70,8kg und waren zwischen zwei und vier Jahre alt.

Bei jedem Schaf wurde vor Aufnahme des Tieres in die Herde der Versuchstiere eine Ankaufsuntersuchung durchgeführt. Dabei wurde eine Allgemeinuntersuchung vorgenommen und auch besonderen Wert auf Klauengesundheit gelegt. Zur Bestimmung von Antikörpern gegen den Erreger der Maedi-Visna Erkrankung, wurde mit einem Vacutainersystem (Bellvier Industrial Estate, Plymouth, Großbritannien) von jedem Tier eine Blutprobe genommen und zur Analyse in das Virologische Institut des Tierspitals Bern geschickt. Bei allen weiblichen Tieren wurde im Rahmen der Ankaufsuntersuchung eine Ultraschalluntersuchung zum Ausschluss einer möglichen Trächtigkeit durchgeführt. Außerdem wurden die angekauften Schafe gegen Clostridien- und Pasteurelleninfektionen (2ml/Tier, Ovilis® Heptavac P ad us. vet., Veterinaria AG, Zürich, Schweiz), sowie gegen Infektionen mit dem Erreger der Moderhinke (1ml/Tier, Footvax® ad us. vet., Provet AG, Lyssach, Schweiz) gemäß den Empfehlungen der Hersteller immunisiert. Mit Doramectin (0,2mg/kg, Dectomax®, Pfizer AG, Zürich, Schweiz) und Netobimin (4ml/10kg; Hapadex® 5%, Essex Tierarznei, Lyssach, Schweiz) wurde eine Behandlung gegen Ekto- und Endoparasiten durchgeführt. Nach Abschluss der Ankaufsuntersuchung wurde jedem Tier eine bestandseigene Ohrmarke eingezogen. Ausschließlich nicht trächtige Schafe mit einwandfreiem Gesundheitsstatus und negativem Maedi-Visna Befund wurden als Versuchstiere in die Studie aufgenommen. Die Schafe wurden auf einem Hof in Herden gehalten, in denen alle Tiere den gleichen Gesundheitsstatus hatten, sowie regelmäßig geimpft und entwurmt wurden. Die Versuchstierherde unterlag einer 6-wöchentlichen tierärztlichen Kontrolle und wurde zweimal im Jahr von einem Schafscherer geschoren. Alle 6 Wochen wurde bei allen Tieren des Bestandes eine Klauenpflege durchgeführt.

3.4 Operation

3.4.1 Vorbereitung zur Operation

Zehn bis vierzehn Tage vor dem geplanten Operationstermin wurden die Versuchstiere ins Tierspital verbracht, um ihnen Gelegenheit zu geben, sich an die neue Umgebung zu gewöhnen. Im Tierspital standen sie unter ständiger tierärztlicher Aufsicht.

Zwei Tage vor der Operation wurden die Gewichte der Schafe mit einer Viehwaage ermittelt. Dann wurde bei jedem Tier eine Blutprobe zur chemischen und hämatologischen Untersuchung genommen. Eine eingehende Allgemeinuntersuchung wurde durchgeführt und das Alter der Schafe anhand einer Schätzung des Zahnalters mit den vorliegenden Daten des Bestandsbuches verglichen. Der Beckenbereich der Versuchstiere wurde beidseitig von der Kniefalte bis zu den kranialen Lendenwirbeln geschoren. Auch im Bereich der Jugularvene wurde den Tieren die Wolle entfernt, um das problemlose Legen eines Venenverweilkatheters zu ermöglichen.

Vierundzwanzig Stunden vor dem chirurgischen Eingriff wurde den für die OP vorgesehenen Schafen das Futter entzogen. Der Zugang zu frischem Wasser blieb den Tieren jederzeit gewährt.

3.4.2 Anästhesie

Noch im Stall erfolgte die sedative und analgetische Prämedikation des Tieres mit 0,1ml/kg Xylazin i.m. (Rompun® 2%, Provet AG, Lyssach, Schweiz) und 0,01mg/kg Buprenorphin i.m. (Temgesic®, Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz). Nach ungefähr einer halben Stunde wurde das Schaf in den Operationsraum geführt. Dort wurde ihm die Halsseite nochmals fein geschoren und unter sterilen Kautelen ein Venenverweilkatheter in die Vena jugularis gelegt (BD Angiocath® 14 G, Becton Dickinson AG, Schweiz). Danach wurde dem Tier eine präoperative Antibiose mit 30000 IU/kg Benzylpenicillin i.v. (Penicillin Natrium ad. Us. vet., Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) und 6mg/kg Gentamicin i.v. (Vetagent® ad. us. vet., Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) verabreicht, um möglichen, postoperativen Infektionen vorzubeugen. Außerdem erfolgte eine analgetische und antiphlogistische Medikation mit 4mg/kg Carprofen i.v. (Rimadyl®, Pfizer AG, Zürich, Schweiz). Zur Tetanus Prophylaxe erfolgte eine Injektion von 3000 IU Tetanusserum s.c. (Tetanusserum ad. us. vet., Intervet, Veterinaria AG, Zürich, Schweiz).

Vor Einleitung der Narkose wurden Herz und Lunge des zu operierenden Schafes von einem Anästhesisten auskultiert und die Narkosefähigkeit beurteilt.

Die Anästhesie des Tieres wurde mit 0,1mg/kg Diazepam i.v. (Valium®, Roche Pharma AG, Rheinach, Schweiz), sowie 2-6mg/kg Ketamin i.v. (Narketan® 10, Vetoquinol AG, Bern, Schweiz) und 2-4mg/kg Propofol i.v. (Propofol® 1 %, Fresenius, Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) eingeleitet. Nach endotrachealer Intubation des Schafes (Tubus Größe 11 oder 12) wurde es an das Anästhesiegerät angeschlossen. Im weiteren Verlauf wurde die Narkose mit 1,5-2% Isofluran über den Tubus (Isoflo®, Abott AG, Baar, Schweiz) aufrechterhalten. Im Sinne einer balancierten Anästhesie wurde zusätzlich mithilfe einer Spritzenpumpe (Perfusor® compact S, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) Propofol (1-6mg/kg/h) über den venösen Zugang verabreicht. Zur Unterstützung der Vitalfunktionen bekam das Tier eine Dauertropfinfusion mit 10ml/kg/h Ringerlactat (Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz). Um während des chirurgischen Eingriffes eine bestmögliche Analgesie gewährleisten zu können, wurde dem Tier in sternaler Lage unter aseptischen Bedingungen eine Epiduralanästhesie zwischen dem letzten Lendenwirbel und dem Kreuzbein gesetzt. Dazu wurde 0,1mg/kg Morphinhydrochlorid (Sintetica®, Mendrisio, Schweiz) verwendet. Danach wurde das Schaf in einer für den chirurgischen Eingriff optimalen Lage (Abb. 5) auf dem OP Tisch positioniert.

Während der gesamten Anästhesie wurden die Vitalwerte des Tieres unter Verwendung eines Kapnographen, eines Pulsoxymeters, eines EKGs und mithilfe direkter Blutdruckmessung in der Ohrarterie überwacht und dokumentiert.

3.4.3 Chirurgischer Eingriff und intraoperative Resonanzfrequenzanalyse

Das Operationsfeld wurde aseptisch vorbereitet und mit sterilen Tüchern abgedeckt.

Parallel zur Längsachse des Os iliums erfolgte der Hautschnitt, der sich von der Mitte der Crista iliaca circa 3cm kranial und 10cm kaudal erstreckte. Mit einem Elektrokauter wurde das Unterhautfettgewebe durchtrennt und auftretende kleinere Blutungen gestillt. Dann wurde die Fascia pelvina durchschnitten und zwischen den Muskelbäuchen des M. tensor fasciae latae und M. gluteus medius stumpf in die Tiefe präpariert. Beide Muskeln wurden von ihrem Ursprung, der Crista iliaca, von distal nach dorsal, bis etwas über die Mitte des Os ilium abgetrennt. Dann wurde die Crista iliaca freigelegt, indem Weichteilgewebe und Knochenhaut mit einem Raspatorium entfernt wurden. Die entstandene Wundhöhle wurde während des weiteren operativen Eingriffs mit der Hilfe von zwei Langenbeck-Haken offen

gehalten, Entlang der Linea glutea wurde eine speziell angefertigte, biegsame Bohrschablone (Template) angesetzt, um bei allen Versuchstieren dieselbe Positionierung der Implantate im Beckenknochen zu gewährleisten. In jede Beckenhälfte wurden 6 Dentalimplantate nach einer zuvor bestimmten, randomisierten Verteilung eingesetzt. Das Bohren der Löcher für die Implantate erfolgte gemäß den Vorgaben des jeweiligen Herstellers. Die einzelnen Schritte des Bohrprotokolls sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Bohrprotokoll Straumann Bone Level (Implantat Typ A/ Typ B)

Schritt	Bohrer	Bohrdurchmesser (mm)	Geschwindigkeit (rpm)
1	Pilotbohrer	2,2	800
2	Pilotbohrer	2,8	800
3	Spiralbohrer	3,5	600
4	Profilbohrer	3,5mm	300

Die Bohrungen wurden mit einer handelsüblichen Antriebseinheit für dental-chirurgische Anwendungen (Osseoset®100, Nobel Biocare, Kloten, Schweiz) vorgenommen. Um eine Überhitzung des Knochens zu vermeiden, wurde während der Aufbereitung der Implantatstollen permanent mit steriler Ringerlactat- Lösung gekühlt (integrierte externe Kühlung am Winkelstück). Pro Beckenseite (n=6) und jeweiligen Bohrschritt wurde ein neuer Bohrer verwendet, so dass jeder Bohrer maximal für 6 Bohrungen verwendet wurde. Die jeweiligen Implantatpositionen wurden zuvor mit einem konventionellen Rosenbohrer auf der Knochenoberfläche vormarkiert. Sowohl die Implantate vom Typ A, als auch vom Typ B wurden manuell eingedreht. Dabei wurde Typ A mit einem individuell angefertigten, chirurgischen Schraubenzieher (surgical driver, Nobel Biocare, Kloten, Schweiz), und Typ B mit dem konventionellen Implantateindrehwerkzeug (implant adapter, Straumann® AG, Basel, Schweiz) eingebracht. Das maximale Drehmoment wurde bei allen Implantaten auf 35 Ncm festgesetzt.

Nachdem alle Implantate in die entsprechende Position in der Beckenhälfte eingebracht worden waren, (n = 6), wurde deren Stabilität im Knochen mit Hilfe der Resonanzfrequenzanalyse (Osstell Mentor®, Integration Diagnostics, Göteborg, Schweden) an jeder Position gemessen und schriftlich festgehalten (Beschreibung Gerät und Methode siehe Kapitel 3.7). Dazu wurde in das Innengewinde des Implantats jeweils eine passende,

magnetische Messsonde, ein so genannter SmartPeg® (Integration Diagnostics, Göteborg, Schweden) eingedreht.

Tabelle 6: Übersicht der verwendeten Smartpegs

	Oberfläche	Smartpeg
Typ A	TiUnite®	Typ 21
Typ B	SLActive®	Typ 42

Die RFA zur Bestimmung des Implantatstabilitätsquotienten (ISQ) wurde an jedem eingesetzten Implantat an zwei verschiedenen Messpositionen durchgeführt (ISQ1 und ISQ2). Dabei lagen die beiden Messpositionen zueinander in einem Winkel von 90°. Der Wert des jeweiligen ISQ konnte unmittelbar am Display des Osstell Mentor® abgelesen werden.

Nach Beenden der RFA wurde in jedes eingesetzte Implantat eine Einheitschraube (coverscrew) eingedreht und die Positionierung der Implantate im Beckenknochen mit einer Fotokamera (Digital Still Camera, DSC-R1, Sony®, Tokio, Japan) dokumentiert. Danach wurde die Muskulatur reponiert und deren Sehne an der Crista iliaca mittels fortlaufender, resorbierbarer Naht befestigt (Polyglactin, Vicryl 2-0, Johnson&Johnson Int., Brüssel, Belgien). Die Fascia pelvina wurde ebenfalls mit resorbierbarem Nahtmaterial fortlaufend genäht. Dann wurde die Subcutis mittels Matratzennaht adaptiert (Polyglactin, Vicryl 2-0, Johnson&Johnson Int., Brüssel, Belgien) und die Haut mit Wundklammern verschlossen. Zum Schluss wurde die Wunde mit einem Gazetupfer abgedeckt, der ebenfalls mit Wundklammern befestigt wurde, um Verschmutzungen vorzubeugen. Das Schaf wurde über ventral auf die contralaterale Seite gedreht und der Eingriff dort nach demselben OP-Protokoll wiederholt.

Jedem Versuchstier wurde eine versuchseigene, rote Ohrmarke eingezogen und ein Mikrochip (DATAMARS SA, RF-Identification Technology, Bedano-Lugano, Schweiz) in die linke Halsseite eingesetzt, um eine eindeutige Identifikation des Tieres zu ermöglichen.

3.4.4 Postoperative Versorgung

Nach der Extubation durch das Anästhesie-Team wurden die Schafe zurück in den Stall gebracht und während der gesamten Aufwachphase tierärztlich überwacht. Dabei hatten sie sofort Zugang zu Wasser und Futter ad libitum.

Zur postoperativen Analgesie wurde den Tieren dreimal im Abstand von vier Stunden 0,01mg/kg Buprenorphin i.m. (Temgesic®, Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz) verabreicht und ihr Allgemeinbefinden alle zwei Stunden von einem Tierarzt kontrolliert.

Die Antibiose sowie die Behandlung der Schafe mit nichtsteroidalen Antiphlogistika wurden noch drei Tage nach der Operation fortgeführt. Dazu wurden alle 12 Stunden 30000 IU/kg Benzylpenicillin (Penicillin Natrium ad. Us. vet., Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz), alle 24 Stunden 6mg/kg Gentamicin (Vetagent® ad. us. vet., Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) und alle 24 Stunden 4mg/kg Carprofen (Rimadyl®, Pfizer AG, Zürich, Schweiz) über den Venenverweilkatheter verabreicht. Zweimal am Tag wurden das Allgemeinbefinden und die Operationswunde der Schafe tierärztlich untersucht. Nach Beendigung der Medikation wurde der Venenverweilkatheter sachkundig entfernt. Der Gazetupfer, der die Wunde des chirurgischen Eingriffs bedeckte, wurde 3 Tage post operationem entfernt. Die Klammern der Operationswunde wurden bei gutem Heilungsverlauf nach 10 Tagen gezogen.

Bis auf weiteres verblieben die Versuchsschafe bis zu ihrer Schlachtung unter ständiger, tierärztlicher Beobachtung am Tierspital.

3.4.5 Einsetzen der Implantate am Kadaver

Die Bestimmung des 0-Wertes, also der Verhältnisse von Knochen und Implantat unmittelbar nach dem Einsetzen, wurde an einem Schlachtbecken durchgeführt. Dazu wurden Becken von mehreren erwachsenen Schafen direkt nach der Schlachtung entnommen. Das Weichteilgewebe wurde abpräpariert und das Os ilium, analog zur OP, auch freigelegt. Dann erfolgte das Bohren und Einsetzen der Implantate nach der gleichen Methodik wie am lebenden Versuchstier. Die Aufbereitung der Proben erfolgte unmittelbar nach der Implantation.

3.5 Fluoreszenzmarkierung

Mit Hilfe der polychromen Fluoreszenzmarkierung wurde die Bildung von neuem Knochen im zeitlichen Verlauf bei sämtlichen Gruppen dargestellt.

Alle Versuchstiere erhielten zwei Wochen post operationem eine subkutane Injektion mit Calceingrün (5mg/kg KGW; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs, Schweiz). Die Schafe, für die eine Einheilphase von vier Wochen festgesetzt worden war, bekamen zusätzlich vier Wochen post operationem eine subkutane Injektion mit Xylenolorange (90mg/kg KGW; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs, Schweiz). Zuletzt wurde den Tieren, deren Einheilphase acht Wochen dauerte Oxytetracyclin (20mg/kg KGW; Engemycin®, Intervet, Veterinaria AG, Freienbach, Schweiz) als subkutane Injektion verabreicht. Calceingrün leuchtet in der Fluoreszenzmikroskopie grün, Xylenolorange hellrot und das verwendete Tetracyclin stellt sich bräunlich bis ockerfarben dar.

Bei allen Injektionen wurde darauf geachtet, dass die Farbstoffe mindestens 48 Stunden vor der Schlachtung verabreicht wurden.

3.6 Probengewinnung

3.6.1 Schlachtung und makroskopische Beurteilung

Je nach festgesetzter Dauer der Einheilphase wurden die Schafe zwei, vier oder acht Wochen nach der OP in der Schlachthalle des Tierspitals Zürich geschlachtet. Dazu wurden die Tiere mit einem Bolzenschussgerät betäubt und dann durch Blutentzug getötet. Nach sachkundigem Enthäuten, Ausweiden und grober Zerlegung durch den Metzger, konnte der Beckenknochen entnommen werden und die Probengewinnung beginnen.

Das Becken wurde in zwei Hälften gesägt und das anhaftende Weichteilgewebe mit einem Skalpell vorsichtig von den Beckenschaufeln entfernt. Die in den Knochen eingebrachten Implantate wurden sorgfältig freigelegt und dann adspektorisch und palpatorisch beurteilt. Zur Dokumentation wurden Nahaufnahmen der Implantate im Schlachtknochen gemacht (Abb. 6).

3.6.2 Röntgen des isolierten Beckens

Von den isolierten und präparierten Ossa ilii wurden Röntgenaufnahmen in zwei Ebenen mit einem Faxitron (LX-60 Laboratory Radiograph System®, Cabinet X-Ray System, Faxitron X-Ray Corporation, Lincolnshire, Illinois, USA) angefertigt (Abb. 4). Hierauf wurden die Einheilschrauben der Implantate entfernt.

3.7 Resonanzfrequenzanalyse

An den intakten Beckenhälften wurde der ISQ der sich dort befindenden Implantate bestimmt. Die RFA wurde, wie zuvor während der Operation, mit dem Gerät Osstell Mentor® (Integration Diagnostics, Göteborg, Schweden) und dem für den jeweiligen Implantattyp passenden SmartPeg® (Integration Diagnostics, Göteborg, Schweden) durchgeführt. Der SmartPeg® wurde von Hand auf das Implantat geschraubt und die Sonde des Osstell Mentor® nah an den SmartPeg® gehalten, ohne diesen dabei zu berühren. Entsprechend den Vorgaben des Herstellers wurde an jedem Implantat an zwei Positionen, die sich zueinander in einem Winkel von 90° befanden, gemessen.

Das Osstell Mentor® sendet magnetische Impulse aus, die den ebenfalls magnetischen SmartPeg® und das mit ihm verbunden Implantat in Schwingungen versetzen. Je stabiler die Verbindung zwischen Knochen und Implantat, desto höher ist die Frequenz der Schwingungen. Je instabiler die Verbindung zwischen Knochen und Implantat, desto niedriger ist die Frequenz. Die Frequenz dieser Schwingungen wird vom Osstell Mentor® gemessen und als Implantatstabilitätsquotient (ISQ) angegeben. Der ISQ liegt zwischen eins und hundert, wobei eins die niedrigste, und hundert die höchste Stabilität repräsentiert.

3.8 Probenaufbereitung

Nachdem die Werte der RFA erhoben worden waren, wurden die Beckenhälften mittels einer Bandsäge (Stryker® Instruments, Michigan, USA) in 1x1cm große Würfel zersägt, die jeweils ein Implantat enthielten.

Die für den Removal Torque Test bestimmten Proben wurden einzeln in mit isotonischer Kochsalzlösung befeuchtete Gazetupfer gewickelt, in kleine Plastiktütchen verpackt und beschriftet. Über Nacht wurden sie gekühlt gelagert und am folgenden Tag ins ARTORG-Center, Institut für Chirurgische Technologien und Biomechanik der Universität Bern, Schweiz, gebracht. Dort wurden die Removal Torque Tests unmittelbar ausgeführt.

Die für die Histologie bestimmten Proben wurden einzeln in beschriftete Gläser mit 40% Alkohol eingelegt. Um ein Verblassen der Fluoreszenzfarbstoffe zu verhindern, wurden alle Probengläser bis zur Einbettung lichtgeschützt unter Alufolie aufbewahrt.

Es folgte eine aufsteigende Alkoholreihe (40-100%), um das Knochengewebe zu entwässern.

Als die Proben sich im 70 % Alkohol befanden, wurden sie ins Research Laboratory for Microscopy and Histology (Horgen, Schweiz) gebracht, wo ein μ CT durchgeführt wurde.

Danach wurden die Proben wieder im ARTORG Center mit einer Bandsäge (Proxxon® Säge MBS 230/E, Proxxon, Niersbach, Deutschland) und einer eigens dafür angefertigten Apparatur so gesägt, dass eine Seitenfläche des Knochenwürfels genau parallel zur Implantatachse verlief, und so nach dem Einbetten ein möglichst genauer medianer Längsschnitt durch das gesamte Implantat möglich war.

Die Alkoholreihe wurde bis 100% fortgeführt und die Proben hierauf vier Tage unter Vakuum in Xylol aufbewahrt. Zur endgültigen Fixierung des Gewebes wurden die Knochenwürfel zum Schluss für sieben Tage ebenfalls unter Vakuum, bei 4°C in flüssiges Methylmethacrylat (MMA) eingelegt. Nach einer Woche wurden die Proben in Teflonformen eingebettet, wobei die Fläche des Knochenwürfels, die parallel zur Implantatachse gesägt worden war, am Boden der Form zu liegen kam. Anschließend wurden kleine, bereits ausgehärtete MMA Stückchen zurechtgesägt und mit ihnen der Knochenwürfel in der Form so verkeilt, dass er sich beim Polymerisieren des flüssigen MMA nicht drehen oder verschieben konnte. Dann wurden alle Formen mit MMA aufgegossen, luftdicht verschlossen und sieben bis zehn Tage bei Raumtemperatur zum Aushärten stehen gelassen. Nachdem die Proben fest geworden waren, wurden sie aus den Formen gelöst und mit einer Innenlochsäge (Leica® SP 1600, Leica Instruments GmbH, Deutschland) geschnitten. Die Schnitte erfolgten parallel zur Implantatachse und möglichst genau durch den kompletten Durchmesser des Implantats. Von jeder Probe wurde ein Fluoreszenzschnitt (300-400µm) angefertigt. Der verbliebene Block wurde in das Research Laboratory for Microscopy and Histology (Horgen, Schweiz) gebracht, in dem von jeder Probe eine Aufnahme mit dem Elektronenmikroskop gemacht wurde. Anschließend wurden am Tierspital Zürich die Dickschnitte (400-500µm) mit einer Innenlochsäge gesägt.

Von den Dickschnitten wurde vor dem Aufziehen auf die Objektträger eine Mikroradiografie (Faxitron X-Ray System, Hewlett&Packard, Kodak X-OMAT MA Film, Kodak, Frankreich) angefertigt (Abb. 3).

Anschließend wurden die Dickschnitte auf einen Objektträger aus opalem Acrylglas geklebt (Perspex GS Acrylglas Opal 1013, Wachendorf AG, Basel, Schweiz) und mit einer Schleifmaschine (Struers® Planopol-V, Merck) auf eine Dicke von 30-40µm geschliffen. Die Dickschnitte wurden mit Toluidinblau angefärbt und sorgfältig beschriftet.

Die Fluoreszenzschnitte wurden auf Glasobjektträger aufgezogen und mit einem auf MMA-basierenden Eindeckmedium aufgeklebt. Dann wurde jeder Schnitt einzeln in Alufolie gehüllt, um die Schnitte vor Lichteinwirkung zu schützen.

3.9 Removal Torque Test

In den Ausdrehversuchen (Removal torque testing of the bone-implant interface) wurde das Drehmoment bestimmt, das nötig ist, um die Verbindung von Knochen und Implantat zu lösen. Dazu wurden die Proben in ca. 7x3x2cm große Pappformen gelegt und in „Dental Plaster“ (GC Fujirock®EP, GC Europe, Leuven, Belgium) eingebettet. Nach Aushärtung des „Dental Plaster“ wurde der nun feste „Dental Plaster“-Block in eine Aluminiumform abgesenkt und mit einer flüssigen, 60°C heißen Metalllegierung (Ostalloy 117, Metallum AG, Pratteln, Schweiz) umgeben. Nachdem die Metalllegierung ausgehärtet war, war der Knochenwürfel so fixiert, dass eine Rotation des Würfels in der Aluminiumform während des Tests nicht mehr möglich war. Bei einer Probentemperatur von maximal 29°C wurde das zu testende Implantat an der Removal Torque Testmaschine (MTS Mini Bionix 858, MTS Systems Corporation, Eden Prairie, USA) befestigt und der Versuch gestartet. Dazu wurde das Ausdrehinstrument für den jeweiligen Implantattyp an der Testmaschine montiert und mit dem Innengewinde des Implantats verbunden. Das Ausdrehinstrument wurde mit einer Halterung verbunden, die am Flansch der servohydraulischen Testmaschine befestigt war. Dies ließ eine freie, axiale Verschiebung zu, so dass das beim Ausdrehen an Höhe gewinnende Implantat während des Versuchs nicht behindert wurde. Mit einer Winkelgeschwindigkeit von 0,05°/sec wurde das Implantat nun gegen den Uhrzeigersinn gedreht, und das Drehmoment mithilfe eines Computerprogramms (MATLAB Version 6.5) aufgezeichnet. Wenn das Drehmoment gleich blieb und nicht mehr anstieg, wurde die Maschine gestoppt und der Versuch beendet. Die erhaltenen Daten wurden mit Excel bearbeitet und das Ausdrehmoment (Nmm), sowie die Steifigkeit (Nmm/°) bestimmt.

3.10 μ CT

Bei 70 % Alkohol wurde die Alkoholreihe unterbrochen und die Proben ins Research Laboratory for Microscopy and Histology, Horgen, Schweiz gebracht, wo der bone-to-implant-contact (BIC) in einem μ CT gemessen wurde. In einem high-resolution-micro-CT-System (μ CT 40, Scanco Medical AG, Brüttisellen, Schweiz) wurden die Proben im Mehrschicht-Modus (multislice mode CT scan) gescannt. Der Datensatz eines jeden Implantats enthielt ca. 600 μ CT Schnittbilder. Aus diesen Datensätzen wurden mit der CT eigenen Software (Scanco Medical AG, Brüttisellen, Schweiz) dreidimensionale Ansichten der Proben rekonstruiert.

Dabei wurde eine Messung des BIC des gesamten Implantates im Knochen (BIC total), und eine Messung des BIC im trabekulären Knochengewebe (BIC trab) ausgeführt. Der Beginn der trabekulären Schnittbilder wurde anhand der Knochenstruktur auf der CT Aufnahme optisch festgelegt. Bei den Proben des Kadavertests wurde nur eine Messung des BIC total durchgeführt und auf eine Messung des BIC trabekulär verzichtet. Die Messwerte wurden in Excel überführt und der BIC als prozentualer Anteil der gesamten Implantatlinie angegeben. Dabei wurde unterschieden zwischen BIC total %, und BIC trabekulär % (BIC trab).

3.11 Fluoreszenzmikroskopie

Mit einem Fluoreszenzmikroskop (DM6000 B®, Leica Microsystems, Heerbrugg, Schweiz) und der darauf installierten Digitalkamera (DFC 350 FX R2, Leica Microsystems, Heerbrugg, Schweiz) wurden die Fluoreszenzschnitte in den Computer eingezogen. Für Calceingrün wurde der Filter L5 verwendet, für Xylenolorange Filter N3 und für Oxytetracyclin Filter D. Mit jedem Filter wurden vier Teilaufnahmen des Implantates gemacht und von der Bildverarbeitungssoftware (Leica Application Suite, Advanced Fluorescence 2.2.0, Leica Microsystems, Heerbrugg, Schweiz) wie ein Mosaik zusammengesetzt. Die Fotos der einzelnen Farbstoffe wurden sowohl separat, als auch übereinander gelagert als tif.-Datei gespeichert.

Die Knochenumbauvorgänge zwei Wochen post OP wurden anhand der Calceingrün Färbung bewertet, die vier Wochen post OP anhand der Xylenolorange Färbung und die 8 Wochen post OP anhand der Tetracyclin Färbung. Diese Farbstoffe haben die Eigenschaft, an freie Calciummoleküle im Blut irreversibel zu binden und werden im Rahmen des Knochenstoffwechsels in das Knochengewebe eingebaut. Je aktiver die Umbauvorgänge im Knochen sind, umso mehr Farbstoff wird in die Knochenmatrix eingelagert und umso intensiver ist die beobachtete Fluoreszenz. Unter dem Licht mit der entsprechenden Wellenlänge, bzw. unter dem passenden Filter des Fluoreszenzmikroskops, fangen die Farbstoffe zu leuchten an. Legt man die Bilder von verschiedenen Zeitpunkten am Computer übereinander, kann man die Intensität des Knochenstoffwechsels zu verschiedenen Zeitpunkten rekonstruieren.

Die Umbauvorgänge am Knochengewebe in Implantatnähe wurden anhand der Intensität der Fluoreszenz qualitativ beurteilt.

3.12 Histologie

Die Dickschnitte wurden mit einem Makroskop (Leica M420®, Leica Microsystems, Glattbrugg, Schweiz) und einer darauf befestigten Digitalkamera (Leica® DFC320) in den Computer eingelesen. Dazu wurde jedes Implantat viermal fotografiert: einmal als Übersichtsaufnahme i

n der Vergrößerung 8x0.5, dann die Gewindegänge beider Seiten und die Spitze des Implantats in einer Vergrößerung von 16x 0.5.

Zur Ermittlung des BIC wurde das Schnittbild des Implantats in verschiedene Sektoren eingeteilt. Dabei orientierte man sich an den Gewindegängen und zählte die Gewindetäler von der Spitze des Implantats bis zum kortikalen Teil ab. Die Sektoren waren außerdem so gewählt, dass sie sich in möglichst allen Schnitten in den gleichen Knochengewebsstrukturen befanden, also in Cortex oder Spongiosa. Sektor eins begann im Tal der achten Gewindespitze und reichte bis zum Rand des Implantats auf Bone Level Niveau, Sektor zwei waren die vier in Richtung Spitze angrenzenden Gewindetäler, Sektor drei die weiteren vier Gewindetäler Richtung Implantatspitze bis zur Hälfte der Strecke von der letzten Gewindespitze bis zur Implantatspitze, Sektor vier die Hälfte der Implantatspitze auf der einen bis zur Hälfte der Implantatspitze auf der anderen Seite, Sektor fünf die nächsten vier Gewindetäler Richtung Kortex, Sektor sechs vier weitere Täler Richtung Kortex und Sektor sieben erstreckte sich vom Tal der achten Gewindespitze von der Implantatspitze aus gezählt bis zum Rand des Implantats auf Bone Level Niveau. In jedem Sektor wurden die Implantatlinie und anschließend die Knochenkontaktklinie separat mit der Maus abgefahren und so am Computer vermessen (ImageAccess® Software, Imagic, Glattbrugg, Schweiz). Dann wurden die Werte der einzelnen Sektoren zusammen gezählt und in Excel der BIC als Prozentwert der gesamten gemessenen Implantatlinie angegeben. Durch die vorherige Einteilung des Implantates in Sektoren war es möglich, den BIC für verschiedene Abschnitte des Implantates gesondert auszurechnen. Daher wurde der BIC einmal für die gesamte Knochenkontaktklinie berechnet (BIC total, alle Sektoren), dann für den spongiösen Teil (BIC trabekulär, Sektoren zwei, drei, fünf und sechs) und für den kortikalen Teil (BIC cortex, Sektoren eins und sieben). Das zur Bestimmung des BIC am Dickschnitt verwendete Schema ist zu finden in Abb. 8 im Abbildungsverzeichnis im Anhang.

3.13 Histomorphometrie

In der histomorphometrischen Auswertung wurde das Verhältnis von neuem zu altem Knochen sowohl im implantatnahen (implant), als auch im implantatfernen Gewebe (surrounding) ermittelt. Dazu wurden die digital gespeicherten Dickschnitte mit einer Software (Adobe Photoshop Elements 4.0®) bearbeitet. Zuerst wurde ein Rechteck festgelegt, das für alle Schnitte verwendet werden und ungefähr drei Gewindetäler einschließen sollte. Dieses Rechteck war 11,9x 1,8mm groß und wurde dann im digitalen Bild über drei Gewindetäler gelegt, wobei darauf geachtet werden sollte, dass dabei ein Gewindetäl im Kortex, und zwei Täler in der Spongiosa erfasst wurden. Die verschiedenen Gewebe wurden dann mit Photoshop nach dem in Tabelle 7 dargestellten Schema angefärbt:

Tabelle 7: Zuteilung Farbe zu Gewebe für die Histomorphometrie

Gewebe	Bezeichnung	Farbe
Alter Knochen	Old matrix	Cyanblau
Neuer Knochen	New matrix	Waldgrün
Knochenmark	Bone marrow	Pink
Implantat	Implant	Beige

Auf jeder Gewindeseite des Implantats wurden jeweils ein Rechteck im implantatnahen Bereich, und ein Rechteck in den implantatfernen Bereich gelegt und angefärbt (Abb. 7). So wurden für jedes Schnittbild insgesamt vier Ausschnitte colouriert. Nachdem alle Pixel des jeweiligen Dickschnittes angefärbt worden waren, wurden mit dem Programm Leica®QWin die prozentualen Anteile der verschiedenen Gewebearten ermittelt.

3.14 Elektronenmikroskop

Die Aufnahmen mit dem Elektronenmikroskop wurden gemacht, nachdem der Fluoreszenzschnitt aus dem MMA-Block herausgesägt worden war. Dazu wurde der Block nach Horgen, ins Research Laboratory for Microscopy and Histology gebracht und die Schnittfläche glatt poliert. Dann wurde die polierte Fläche in einem Bedampfer (Bal-Tec SCD 500, Leica Microsystems, Glattpburg, Schweiz) mit einer 6nm dicken Kohleschicht bedampft. Die Aufnahmen von den Proben wurden in einem Rückstreuielektronendetektor (Backscatter Detektor) in einem Elektronenmikroskop (Zeiss 40VP®, Elektronenmikroskop, Oberkochen, Deutschland) gemacht. Die so erhaltenen Einzelbilder wurden digital zu einem Gesamtbild

zusammen gesetzt (ImageAccess® Imagic, Glattbrugg, Schweiz). Mit der gleichen Software wurde dann der BIC als prozentualer Anteil der gesamten Implantatlinie ermittelt. Zuerst wurde der BIC des kompletten Implantats ermittelt (BIC total), und dann der BIC im spongiösen Anteil des Knochengewebes (BIC trabekulär). Dazu wurden sieben, sich ganz in der Spongiosa befindende Gewindetäler auf beiden Gewindeseiten des Implantats ausgewertet.

3.15 Statistik

Die erhobenen Daten wurden mit dem Programm PASW Statistics 18 (MacIntosh, Chicago, Illinois, USA) auf statistisch signifikante Unterschiede geprüft. Dazu wurde erst eine faktorielle Varianzanalyse (ANOVA Test) angewendet um Gesamtunterschiede zu erkennen. Der Post Hoc Test nach Bonferroni wurde verwendet, um multiple Vergleiche zwischen den individuellen Gruppen durchzuführen. Als statistisch signifikant wurden Werte mit $p < 0,05$ erachtet.

4 Resultate

4.1 Operation und postoperative Phase

Die Anästhesie verlief bei allen Schafen ohne Komplikationen.

Bei einem Schaf der vier Wochengruppe (Schaf 4801) dauerte die OP länger als geplant, wodurch sich die Narkosedauer auf vier Stunden verlängerte. Am ersten Tag post OP zeigte dieses Schaf unerwartet starke Schmerzen, und musste deswegen zweimal analgetisch (0,01mg/kg Buprenorphin i.m., Temgesic®, Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz) behandelt werden. Das Tier war daraufhin bis zu seiner Schlachtung klinisch unauffällig.

Bei der Operation des ersten Schafes der zwei Wochengruppe (Tier 4805) wurden die Positionen eins, drei und fünf in der rechten Beckenhälfte mit einem Drehmoment von unter 35 Ncm eingedreht. Bei den Implantaten auf diesen Positionen, die alle für den Removal Torque Test vorgesehen waren, handelte es sich um Typ A. Ein anderes Drehmoment als geplant musste auch bei einem Schaf der acht Wochengruppe (Schaf 4807) angewendet werden, um beim Einsetzen der Implantate in den Knochen eine mechanische Stabilität zu erreichen. In der rechten Beckenhälfte dieses Tieres wurden die Positionen eins und zwei mit mehr als 45 Ncm eingedreht. Position eins war ein Implantat vom Typ A und ging in den Removal Torque Test ein, während Position zwei ein Implantat vom Typ B war und Teil der histologische Auswertung war.

Die Aufwachphase aus der Narkose verlief bei allen operierten Tieren ohne außergewöhnliche Vorkommnisse. Alle Schafe konnten sich nach ein bis zwei Stunden selbstständig fortbewegen.

Es gab keinerlei Komplikationen der Wundheilung bei allen Versuchstieren.

4.2 Befunde am Schlachtpräparat und Auswertung der Röntgenbilder

Bei allen Schafen konnte die Schlachtung zum festgelegten Zeitpunkt von zwei, vier und acht Wochen erfolgen. Nach der sorgfältigen Präparation der in den Knochen eingesetzten Implantate wurden diese grobsinnlich beurteilt. Sämtliche Implantate lagen bei der Schlachtung an der korrekten Position und waren mit der jeweiligen Einheitschraube verschlossen. Bei den Schafen der zwei Wochengruppe waren die Implantate mit einer sulzigen, weißgrauen Struktur bedeckt. Diese Struktur schien blutig infiltriert zu sein und ließ sich mit dem Skalpell leicht ablösen. Die Implantate der Schafe der acht Wochengruppe waren mit Gewebe von harter, knochenähnlicher Beschaffenheit bedeckt, dass mit dem

Skalpell nur mühevoll abpräpariert werden konnte. Es lagen post mortem keine Anhaltspunkte für ein entzündliches Geschehen vor.

Zum Schlachtungszeitpunkt wurden alle Implantate in der Bone Level Position vorgefunden. An keinem Implantat konnte ein offensichtlicher Verlust an Stabilität festgestellt werden.

Auf den unmittelbar nach der Präparation angefertigten Röntgenbildern konnten keine Befunde erhoben werden, die auf osteolytische Prozesse oder Frakturen hinwiesen. Alle Implantate befanden sich in korrekter Lage auf den einzelnen Positionen und konnten aus radiologischer Sicht als osseointegriert bezeichnet werden.

Während des Aussägens der Implantate aus dem Beckenknochen wurden 19 Implantate leicht angesägt. Von diesen Implantaten gingen sieben in die histologische Auswertung, davon waren vier vom Typ A und drei vom Typ B. Für den Removal Torque Test wurden 12 angesägte Implantate verwendet.

4.3 Resonanzfrequenzanalyse

Mittels der RFA wurde die Stabilität des eingesetzten Implantats gemessen und diese als ISQ (Implantatstabilitätsquotient) ausgedrückt. Während der Operation des ersten Schafes der zwei Wochengruppe (Schaf 4805), stellte das Gerät zur Ermittlung des ISQ unerwartet seine Funktion ein. Die Werte für die rechte Beckenhälfte konnten noch gemessen werden, bei der linken Beckenhälfte war eine Messung nicht mehr möglich. Da das defekte Gerät nicht an Ort und Stelle repariert werden konnte und ein Ersatzgerät nicht verfügbar war, wurde auf eine RFA der linken Beckenhälfte dieses Tieres gezwungenermaßen verzichtet. In den anderen Operationen dieser Studie und den Messungen am Schlachtknochen funktionierte das Gerät einwandfrei. Bei allen Proben der vier Wochengruppe (Schaf 4801 und 4802) wurde der ISQ aus organisatorischen Gründen erst drei Tage nach der Schlachtung bestimmt, als die Proben bereits in Knochenwürfel gesägt und in 40% Alkohol eingelegt waren. Da die Proben durch den Torque Test für die RFA unbrauchbar geworden waren, konnten nur die Proben, die für die Histologie bestimmt gewesen waren gemessen werden. Dadurch reduzierte sich die Probenanzahl der vier Wochengruppe von 24 auf 12. Die Proben der anderen Gruppen wurden an der intakten Beckenhälfte gemessen.

Wie in Tabelle 8 zu sehen, lagen die durchschnittlichen Werte der Messung intra operationem zwischen $64,1 \pm 8,8$ und $76,3 \pm 4,2$. Dabei war der höchste Wert durch die acht Wochengruppe von Implantat B repräsentiert ($76,3 \pm 4,2$), der niedrigste Wert durch Implantat Typ B der zwei Wochengruppe ($64,1 \pm 8,8$). Signifikante Unterschiede im ISQ zum Zeitpunkt der OP gab es

zwischen den beiden Implantattypen keine. Auch beim Vergleich aller OP Werte gab es keine Signifikanzen.

Signifikante Unterschiede traten bei den Messungen post mortem zu Tage. Die Durchschnittswerte sind in Tabelle 9 detailliert aufgeführt, während Diagramm 1 die unterschiedlichen Werte im zeitlichen Verlauf darstellt. Der niedrigste ISQ findet sich bei den Proben von Typ A in der vier Wochengruppe ($48,8 \pm 9,0$), der höchste ISQ bei Implantat A in der zwei Wochengruppe ($78,0 \pm 2,8$). Am Kadaverknochen liegen die Werte nah an denen der Messung während der OP. In der zwei und acht Wochengruppe wurde bei Implantat Typ A ($78,0 \pm 2,8$; $78,0 \pm 12,1$) der höhere ISQ im Vergleich zu Typ B ($70,2 \pm 8,0$; $60,4 \pm 3,3$) gemessen. Die durchschnittlichen Messwerte der vier Wochengruppe lagen bei beiden Implantattypen sehr eng beieinander ($A = 48,8 \pm 9,0$; $B = 49,3 \pm 12,1$). Außerdem waren sie deutlich niedriger als alle anderen in dieser Studie post mortem erhobenen ISQ sowohl bezüglich der Wochengruppen, als auch innerhalb der einzelnen Zeitintervalle. Beim statistischen Vergleich der beiden Implantattypen erkennt man einen signifikanten Unterschied zwischen Implantat Typ A und Typ B in der acht Wochengruppe ($A = 78,0 \pm 12,1$; $B = 60,4 \pm 3,3$). Hier hat Typ A einen signifikant höheren ISQ als Typ B ($p = 0,000$).

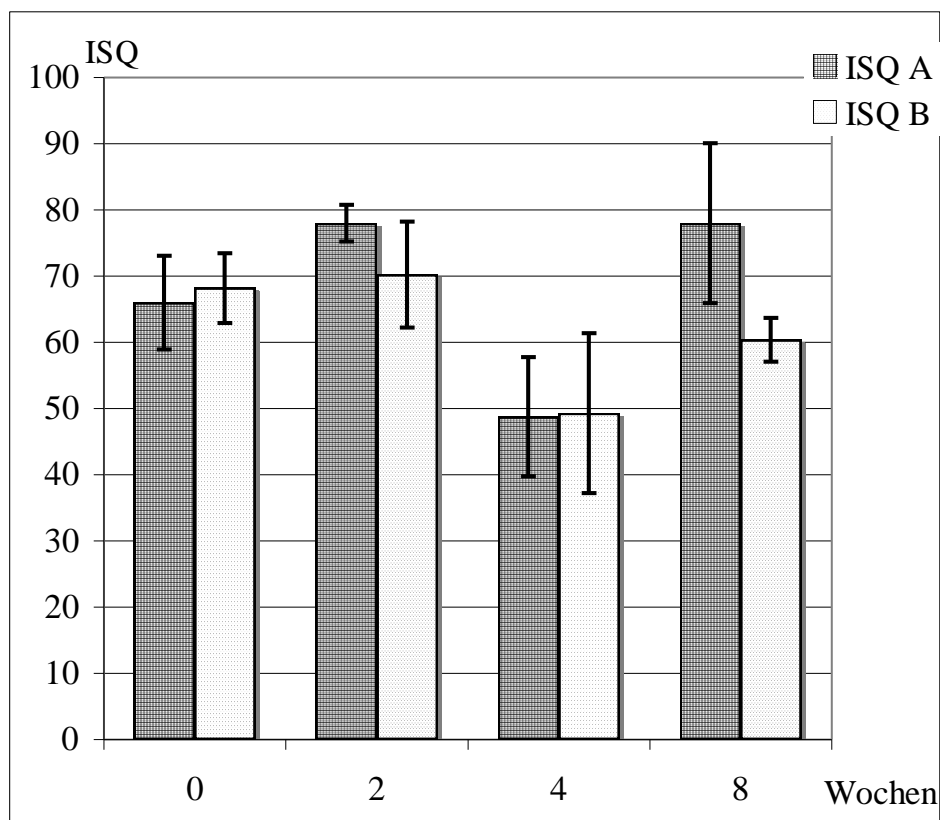
Tabelle 8: ISQ zum Zeitpunkt der Operationen (Mean Values mit Standardabweichung)

Implantat Typ	OP Gruppe	ISQ	Probenanzahl (n)
A	2 Wochen	65,5 ± 6,2	9
B	2 Wochen	64,1 ± 8,8	9
A	4 Wochen	67,8 ± 9,6	12
B	4 Wochen	71,8 ± 3,6	12
A	8 Wochen	72,3 ± 3,9	12
B	8 Wochen	76,3 ± 4,2	12

Tabelle 9: ISQ zum Zeitpunkt der Schlachtungen (Mean Values mit Standardabweichung)

Implantat Typ	Schlachtung	ISQ	Probenanzahl (n)
A	0 Wochen	66,0 ± 7,1	6
B	0 Wochen	68,2 ± 5,3	6
A	2 Wochen	78,0 ± 2,8	12
B	2 Wochen	70,2 ± 8,0	12
A	4 Wochen	48,8 ± 9,0	6
B	4 Wochen	49,3 ± 12,1	6
A	8 Wochen	78,0 ± 12,1	12
B	8 Wochen	60,4 ± 3,3	12

Diagramm 1: ISQ Werte der RFA zum Zeitpunkt der Schlachtungen (Mean Values mit Standardabweichungen)



Diese Grafik veranschaulicht die Ergebnisse der RFA zum Zeitpunkt der Schlachtungen. Dargestellt sind die Implantatstabilitätsquotienten nach null, zwei, vier und acht Wochen von Implantat A (grau) und Implantat B (weiß). Die Werte von A und B liegen an fast allen Zeitpunkten nah aneinander. Nur in der acht Wochengruppe liegt der ISQ von Typ A signifikant höher, als der von B. Die null Wochengruppe wird in dieser Abbildung ausschließlich durch die Messungen am Kadaverknochen repräsentiert. Bei der Betrachtung der vier Wochengruppe ist zu beachten, dass die dargestellten Werte (von A und B) an bereits zugeschnittenen und in Alkohol eingelegten Knochenwürfeln erhoben wurden.

4.4 Removal Torque Tests

Alle Implantate konnten den Removal Torque Test wie geplant am Tag nach der Schlachtung des Versuchstieres durchlaufen.

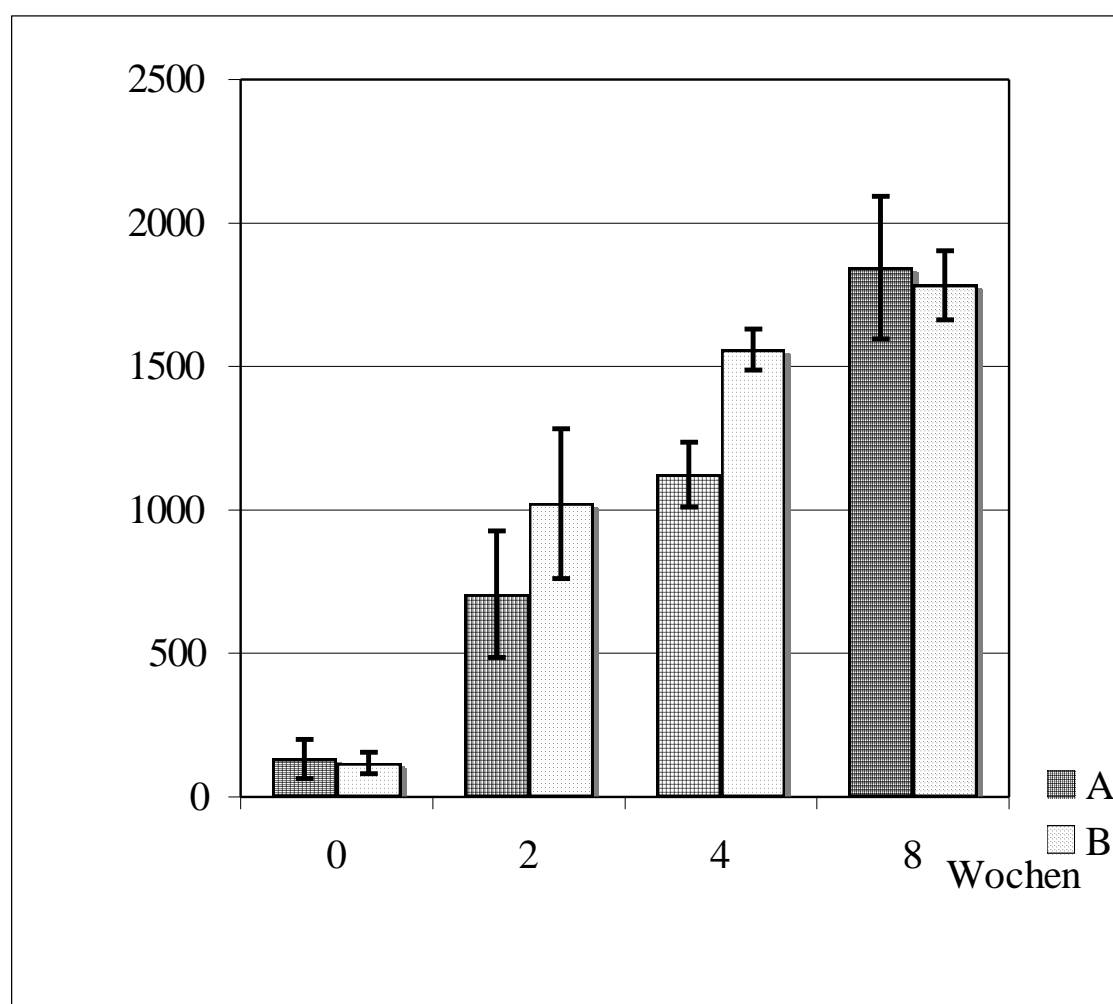
Bei Implantat Typ B, das über ein vierkant Innengewinde mit dem Ausdrehinstrument verbunden war, zeigte sich im Verlauf der Versuche eine Schwäche der Verbindung zwischen Innengewinde und Ausdrehinstrument. Ab einem Drehmoment von 1580 Nmm kam es bei einigen Proben zu einem Versagen des Interface zwischen Ausdrehinstrument und Implantat. Die Kraft, die über das Interface auf das Implantat übertragen werden konnte, war zu klein, um es aus dem Knochengewebe zu drehen und verformte stattdessen lediglich das Innengewinde des Implantats. Dies kam bei vier Implantaten vom Typ B der acht Wochengruppe vor (4807 L2, 4807 L4, 4807 L6, 4808 R5), sowie bei einem Implantat der vier Wochengruppe vom Typ B (4802 L3). Bei einem Implantat vom Typ B aus der vier Wochengruppe (4802 L5) verformte sich das Ausdrehinstrument während des Versuchs.

Die durchschnittlichen Werte des im Removal Torque Test gemessenen, maximalen Drehmoments zeigt Tabelle 10. Bei Betrachtung der Tabelle fällt auf, dass die gemessenen Werte bei Implantat Typ B nach zwei ($1022 \pm 260,8$ Nmm) und vier Wochen ($1558,2 \pm 71,3$ Nmm) höher liegen, als die von Typ A im selben Zeitraum (2 Wochen = $706,5 \pm 19,9$ Nmm; 4 Wochen = $1123,2 \pm 113,2$ Nmm). In der acht Wochengruppe hingegen wurden bei Typ A die höheren Werte gemessen (A = $1844,5 \pm 247,7$ Nmm; B = $1783,6 \pm 120,7$ Nmm). Auch am Kadavermodell zeigt Implantat Typ A die höheren Torque Out Werte (A = $133,0 \pm 68,0$ Nmm; B = $117,7 \pm 37,4$ Nmm).

Die Mean Values mit Standardabweichungen der einzelnen Gruppen wird in Diagramm 2 graphisch dargestellt. Betrachtet man die Werte der gewählten Zeitintervalle, so dokumentieren die stetig ansteigenden Werte sehr anschaulich den zeitlichen Verlauf der Osseointegration während der verschiedenen Einheilphasen. Am meisten nimmt das maximale Drehmoment von der null zu den zwei Wochengruppen zu. Vergleicht man Implantat Typ A und B, so zeigen sich signifikante Unterschiede nur in der vier Wochengruppe, in der das gemessene maximale Drehmoment von Typ B ($1558,2 \pm 71,3$ Nmm) deutlich über dem von Typ A ($1123,2 \pm 113,2$ Nmm) liegt ($p=0,001$).

Tabelle 10: Mean Values der Removal Torque Tests (Maximales Drehmoment in Nmm)

Implantat	0 Wochen	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen
Typ A	133,0 ± 68,0	706,5 ± 219,9	1123,2 ± 113,2	1844,5 ± 247,7
Typ B	117,7 ± 37,4	1022,3 ± 260,8	1558,2 ± 71,3	1783,6 ± 120,7

Diagramm 2: Auswertung Removal Torque Test (Mean Values mit Standardabweichungen in Nmm)

In dieser Abbildung sind die Ergebnisse der Removal Torque Tests veranschaulicht. Dargestellt sind die maximalen Drehmomente nach null, zwei, vier und acht Wochen von Implantat A (grau) und Implantat B (weiß). Die Werte von A und B steigen im zeitlichen Verlauf stetig an, am meisten jedoch von der null zur zwei Wochengruppe. Bei Betrachtung der vier Wochengruppe wird deutlich, dass das maximale Drehmoment von Typ B signifikant höher liegt, als das von Typ A innerhalb desselben Zeitraumes.

4.5 Schnittbilder des μ CT

Die Messungen des BIC mit dem μ CT konnten ohne Probleme durchgeführt werden, als die Proben sich in 70% Alkohol befanden. Da bei der null Wochengruppe, dem Kadavertest, nur jeweils eine Probe von Typ A und eine Probe von Typ B verfügbar war, konnten für diese Werte keine Standardabweichungen ermittelt werden und die Proben wurden als BIC total ausgewertet. Dadurch ergab sich für die Messung des BIC total eine ungleiche Probenzahl, die Tabelle 11 darstellt. Post hoc Tests wurden nicht durchgeführt, wenn eine Gruppe weniger als zwei Proben aufwies. Deswegen wurden die post hoc Tests nach Bonferroni nicht für BIC total, sondern nur für BIC trab ausgerechnet. Die einzelnen Messwerte sind in Tabelle 12 dargestellt.

Die durchschnittlichen Werte beider Messvarianten lagen zwischen 48% und 83%. Dabei bewegten sich die Werte der null Wochen Proben für BIC total im Bereich von etwa 50% (A = 48,6 %; B= 52,4%), die der acht Wochen Proben bei ungefähr 80% (A= $83,0 \pm 4,1\%$; B= $80,2 \pm 6,2\%$). Der höchste Wert war bei BIC total zum Zeitpunkt acht Wochen bei Implantat Typ A zu finden ($83,0 \pm 4,1\%$), der niedrigste Wert bei BIC total zum Zeitpunkt null Wochen, ebenfalls bei Implantat Typ A (48,6%). In den post hoc Tests für die BIC trab Werte konnten keine signifikanten Abweichungen zwischen Implantat A und B innerhalb eines Zeitintervalls festgestellt werden. Interessanterweise lag der Wert für Implantat Typ B in der Messung BIC trab bei den zwei Wochen Proben höher ($79,8 \pm 4,4\%$), als bei den acht Wochen Proben ($76,9 \pm 7,4\%$).

Zusammenfassend konnte man hinsichtlich der Auswertung im μ CT keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Knochen-Implantat-Kontakts zwischen den beiden Implantattypen innerhalb eines Zeitintervalls feststellen. Auch der Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Methoden zum Messen des BIC (BIC total und BIC trab) erbrachte keine auffälligen Besonderheiten.

Tabelle 11: Anzahl Proben μ CT BIC total

	0 Wochen	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen
Typ A (n)	1	6	6	6
Typ B (n)	1	6	6	6

Tabelle 12: μ CT BIC total und BIC trab in % (Mean Values mit Standardabweichungen)

		0 Wochen	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen
BIC total	Typ A	48,6	76,2 \pm 0,8	80,3 \pm 1,0	83,0 \pm 4,1
	Typ B	52,4	80,7 \pm 3,0	76,0 \pm 5,2	80,2 \pm 6,2
BIC trab	Typ A	Keine Messung	74,5 \pm 2,7	82,0 \pm 2,2	80,9 \pm 5,0
	Typ B	Keine Messung	79,8 \pm 4,4	77,0 \pm 5,4	76,9 \pm 7,4

4.6 Mikroradiographien

In der Darstellung röntgendichter Strukturen stimmten die Mikroradiographien mit der in der Toluidinblau Färbung erkennbaren Knochenstruktur überein. Sie dienten vornehmlich der lückenlosen Dokumentation und wurden nicht gesondert ausgewertet.

4.7 Fluoreszenzschnitte

Bei der qualitativen Untersuchung der Fluoreszenzschnitte waren zwischen den Implantaten der Typen A und B keine Unterschiede feststellbar. Deswegen wurde auf eine weiterführende, quantitative Auswertung verzichtet.

Zur Darstellung der Aktivität des Knochenstoffwechsels nach zwei Wochen wurde der Farbstoff Calceingrün verwendet. Vor allem das Gewebe in Implantatnähe zeigte im histologischen Präparat in beiden Gruppen nach zwei Wochen eine intensive grüne Färbung. Knochen Remodelling war besonders direkt am Knochen-Implantat Interface, im Bereich der Gewindetäler sichtbar. Dabei zeigte sich die Aktivität meist unstrukturiert, bildete jedoch vereinzelt saumähnliche Linien entlang der Gewindespitzen. Die Knochensplitter im Bereich der Spitze des Implantats unterlagen einem starken Remodelling und waren deutlich angefärbt. Alle sichtbaren, aktiven Gewebeprozesse spielten sich zu diesem Zeitpunkt in der Spongiosa ab. In der Kortex konnte man hingegen kaum Aktivität darstellen. Zwischen Implantat Typ A und Typ B konnten keine Unterschiede bezüglich des Knochenstoffwechsels festgestellt werden.

Die Schnitte nach vier Wochen waren mit Xylenolorange gefärbt und leuchteten rot unter dem Fluoreszenzmikroskop. Die aktiven Bereiche im Knochen waren zu diesem Zeitpunkt weiter vom Implantat Interface entfernt und wurden vor allem im umliegenden Gewebe deutlich. Dabei nahm im Vergleich zu den zwei Wochen Schnitten der Knochenstoffwechsel im Kortex zusätzlich zu dem in der Spongiosa an Intensität merklich zu. Die Struktur der Färbung wirkte in der Spongiosa ringförmig angeordnet, entlang des Bohrkanals im Kortex wie ein Knochensaum. Auch nach vier Wochen war kein Unterschied zwischen A und B feststellbar.

Die Intensität des Knochenstoffwechsels nach acht Wochen war mit Tetracyclin dargestellt worden. Nach diesem Zeitraum fand am Implantat Interface keine sichtbare Aktivität mehr statt. Auch im umliegenden Gewebe war kaum eine starke Färbung sichtbar. Vereinzelte Restaktivitäten waren ringförmig angeordnet. Typ A und Typ B unterschieden sich nicht

hinsichtlich der Intensitäten in der Tetracyclin Färbung. Eine gesonderte Auswertung der Implantatspitze wurde nicht durchgeführt, da beide Gruppen ein identisches Makrodesign besaßen.

4.8 Histologische Auswertung der Dickschnitte

4.8.1 Qualitative Beurteilung der Dickschnitte

Wie bei einer Toluidinfärbung erwartet, zeigte sich neu gebildeter Knochen in einem dunkleren Blauton als alter Knochen. Mit einer Ausnahme waren alle Proben genau im Längsschnitt gesägt worden und konnten daher sehr gut miteinander verglichen werden. Der kortikale und spongiöse Anteil der Gewebestrukturen variierte nur geringfügig und war klar abgrenzbar, ebenso wie die Kontaktlinie zwischen Implantat und Knochen. Zwischen Implantatachse und Bohrkanal kam es zu keinen Abweichungen. Bei den Proben der Kadaver Tests fiel auf, dass sich im Boden und an den Wänden des Bohrstollens durch die mechanische Einwirkung des Bohrens viele kleine Knochensplitter gelöst hatten. Außerdem war bei den Proben dieser Gruppe oft die Oberfläche der Kortex am Rand des Bohrkanals aufgewölbt. In den zwei Wochengruppen konnte man neu gebildeten Knochen, der seinen Ursprung scheinbar in den Knochenspänen des Bohrkanals hatte, bei beiden Implantattypen deutlich erkennen. Diese Vorgänge spielten sich in diesem Zeitraum jedoch nur in der Spongiosa ab. Bei den Proben der vier Wochengruppen bildete sich bei beiden Implantaten neue Knochenmatrix auf den Trabekeln der an das Implantat angrenzenden Spongiosa. Diese neuen Strukturen schienen sich in Richtung des Implantats zu orientieren und tendierten dazu, sich mit dem neu gebildeten Knochen im Bereich des Bohrkanals zu verbinden. In den acht Wochengruppen waren beide Implantate von einer homogenen Struktur aus neu gebildetem Knochengewebe umgeben. Bei diesen Proben war das neue Knochengewebe auch in der Kortikalis erkennbar.

Eine gesonderte Auswertung der Implantatspitze wurde nicht durchgeführt.

Unterschiede zwischen den beiden Implantattypen konnten nicht festgestellt werden.

4.8.2 Ausmessen des BIC

Die durchschnittlichen Werte des gemessenen BIC sind in Tabelle 13 ausführlich dargestellt. Bei der Messung des BIC total lagen die durchschnittlichen Werte zwischen $24,8 \pm 5,1\%$ (Typ

A null Wochen) und $78,0 \pm 3,7\%$ (Typ B acht Wochen). Dabei zeigte Implantat Typ B durchwegs die etwas höheren Werte, jedoch ohne statistische Signifikanz. Zwischen Typ A und B gab es keine signifikanten Unterschiede innerhalb eines Zeitintervalls. Für die Messung des BIC trabekulär ergaben sich Werte zwischen $9,6 \pm 4,4\%$ (Typ A null Wochen) und $81,0 \pm 5,7\%$ (B acht Wochen). Typ B hatte zu allen Zeitpunkten den höheren prozentualen Anteil an gemessenem Knochenkontakt am Implantatinterface. Auch die Messung des BIC im spongiösen Anteil des Präparats ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen Typ A und Typ B innerhalb eines Zeitraums. Bei der Messung des BIC im kortikalen Anteil des Knochengewebes lagen die Durchschnittswerte zwischen $27,0 \pm 10,5\%$ (Typ A zwei Wochen) und $70,6 \pm 8,2\%$ (Typ B acht Wochen). Implantat Typ B hatte durchwegs die höheren BIC Werte. Die Werte von BIC cortex im Verlauf der Einheilphase fielen von der null zur zwei Wochengruppe hin ab (0 Wochen: A= $67,4 \pm 12,7\%$ B= $70,0 \pm 7,9\%$; 2 Wochen: A= $27,0 \pm 10,5\%$ B= $31,5 \pm 19,2\%$), und nahmen dann über die vier zur acht Wochengruppe bei Typ B wieder zu (4 Wochen: B= $50,2 \pm 13,2\%$ 8 Wochen: B= $70,6 \pm 8,2\%$), während sie bei Typ A geringfügig abnahmen (4 Wochen: A= $49,0 \pm 17,2\%$ 8 Wochen: A= $48,6 \pm 18,5\%$), siehe auch Diagramm 4. Zwischen Implantat Typ A und Typ B konnten keine signifikanten Unterschiede innerhalb eines Zeitintervalls beobachtet werden.

Die BIC Werte des trabekulären Knochens nahmen im Verlauf der Zeitintervalle bei beiden Implantattypen stetig zu. Bei Betrachtung der Intervalle von BIC cortex, fielen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Anstieges des BIC von Wochengruppe zu Wochengruppe auf, ebenso bei BIC total. Der zeitliche Verlauf der BIC Werte in BIC total, trabekulär und cortex wird am Beispiel von Implantat A in Diagramm 3 noch einmal verdeutlicht.

Allein die Ergebnisse von BIC trabekulär verhielten sich anders. Im Zeitintervall von null bis zwei Wochen konnte man feststellen, dass bei beiden Implantat Typen die Werte nach zwei Wochen signifikant höher waren, als nach null Wochen (A $p= 0,000$; B $p= 0,000$). Ebenso waren nach vier Wochen die Werte signifikant höher als nach zwei Wochen (A $p= 0,005$; B $p= 0,008$).

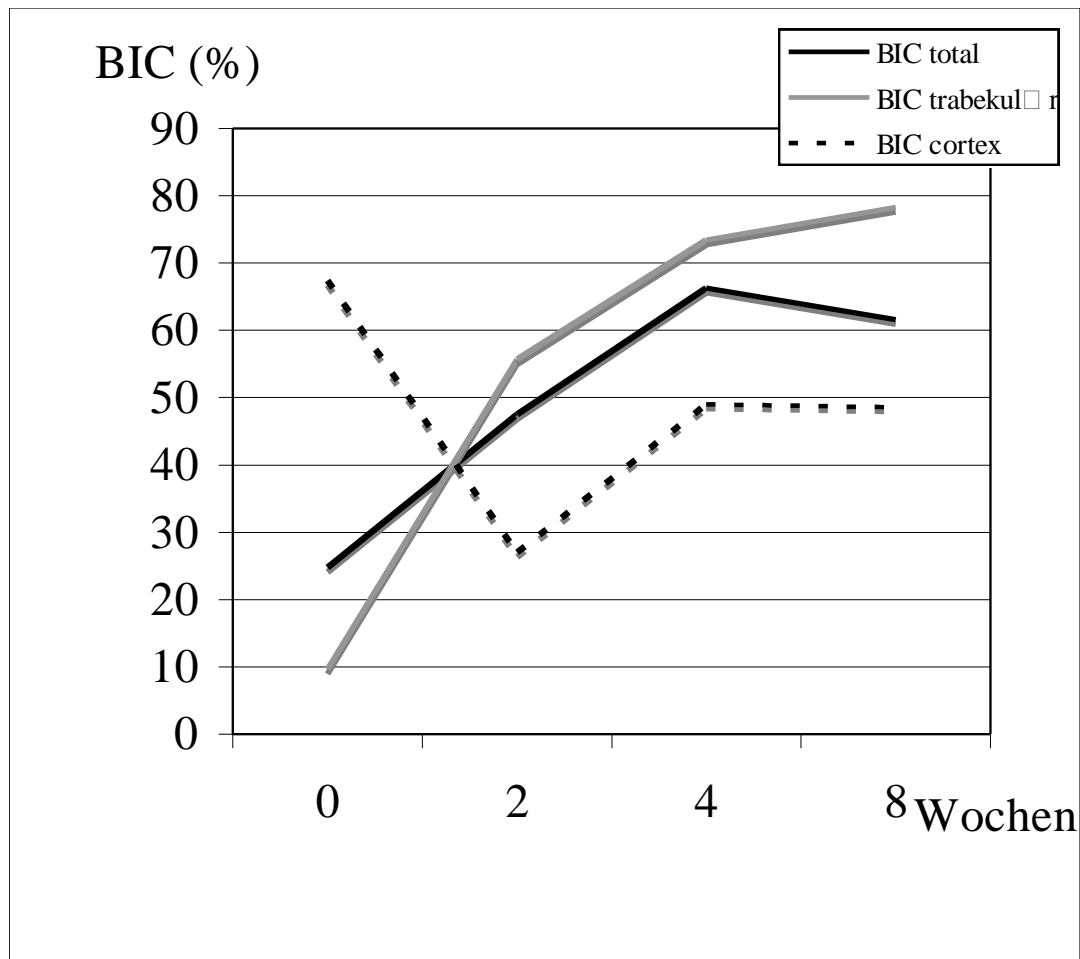
Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass sowohl der maximale (Typ B 8 Wochen= $81,0 \pm 5,7\%$), als auch der minimale (Typ A 0 Wochen= $9,6 \pm 4,4\%$) individuelle Wert bei der Messung des BIC trabekulär zu finden waren.

Zwischen Typ A und Typ B konnten bei allen Varianten zur Messung des BIC keine signifikanten Unterschiede innerhalb eines Zeitintervalls beobachtet werden.

Tabelle 13: Ergebnisse BIC gemessen an mit Toluidinblau gefärbten Schnitten, Mean Values (%) mit Standardabweichungen

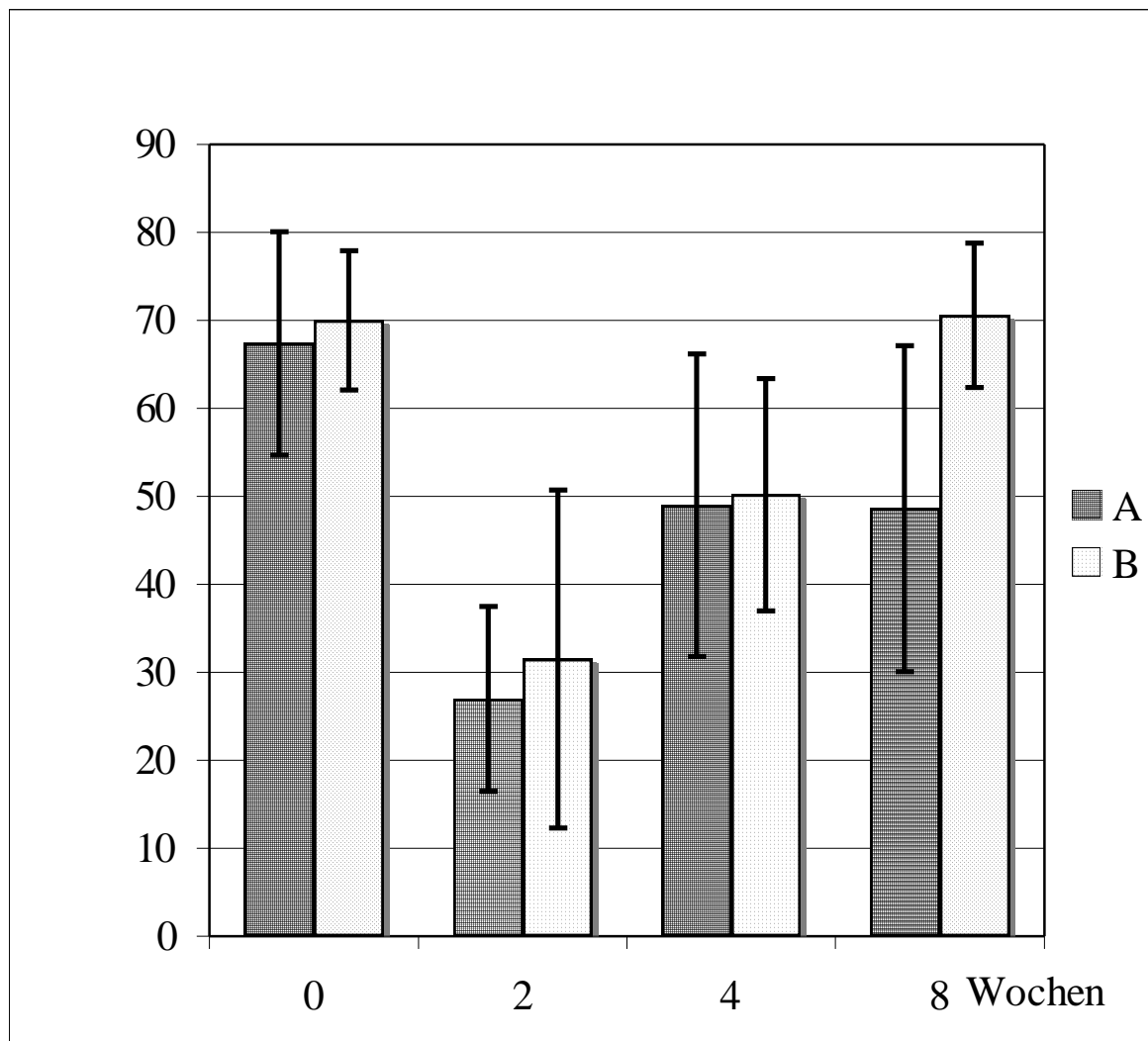
	Implantat	0 Wochen	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen
BIC total	A	24,8 ± 5,1	47,5 ± 8,5	66,3 ± 6,3	61,6 ± 25,7
	B	28,4 ± 6,8	49,2 ± 10,7	66,5 ± 5,1	78,0 ± 3,7
BIC trab	A	9,6 ± 4,4	55,7 ± 10,3	73,4 ± 4,4	78,3 ± 9,3
	B	15,4 ± 6,4	56,3 ± 8,6	73,0 ± 4,5	81,0 ± 5,7
BIC cortex	A	67,4 ± 12,7	27,0 ± 10,5	49,0 ± 17,2	48,6 ± 18,5
	B	70,0 ± 7,9	31,5 ± 19,2	50,2 ± 13,2	70,6 ± 8,2
Proben	42	6	12	12	12

Diagramm 3: Darstellung des BIC im zeitlichen Verlauf und mit verschiedenen Auswertungsbereichen am Beispiel von Implantat A



Diese Grafik verdeutlicht die Abnahme des BIC cortex(gestrichelte Linie) im Vergleich zu BIC trabekulär(graue Linie) und BIC total(schwarze Linie), die beide im Verlauf tendenziell zunehmen. Am meisten steigt der BIC trabekulär von null bis zwei Wochen, und von zwei bis vier Wochen an. Hier findet man signifikante Unterschiede in Bezug auf den jeweils früheren Auswertungszeitpunkt. Den höchsten BIC findet man im spongiösen Knochengewebe.

Diagramm 4: Darstellung des lichtmikroskopisch gemessenen BIC cortex (%) (Mean Values mit Standardabweichungen)



Diese Grafik veranschaulicht den zeitlichen Verlauf des BIC cortex (%) von Typ A und Typ B. Zwischen null und zwei Wochen nimmt der BIC cortex von beiden Implantattypen ab. Im Zeitraum von vier bis acht Wochen nimmt der BIC von A geringfügig ab, während der von B ansteigt.

4.8.3 Histomorphometrische Auswertung

In der histomorphometrischen Auswertung gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen Implantat Typ A und B bezüglich des prozentualen Anteils neuen Knochen-, bzw. alten Knochengewebes oder Knochenmarks innerhalb der verschiedenen Einheilphasen.

Der prozentuale Anteil an neu gebildeter Knochenmatrix war im implantatnahen durchschnittlich höher, als im implantatfernen Auswertungsbereich. Die einzelnen Werte sind in Tabelle 14 dargestellt. Der maximale Wert betrug am Interface $61,2 \pm 15,6\%$ (Typ B, acht Wochen), der minimale $23,6 \pm 6,9\%$ (Typ A, null Wochen). Im implantatfernen Gewebe lag der maximale Anteil an neuer Knochenmatrix bei $42,7 \pm 12,1\%$ (Typ B, acht Wochen) und der minimale bei $13,8 \pm 2,6\%$ (Typ A, null Wochen). Je länger die Einheilphasen dauerten, desto höher war der Anteil an neu gebildetem Gewebe, sowohl am Interface des Implantats, als auch im umliegenden Gewebe. In allen Wochengruppen lagen die Werte von Implantat Typ B meist etwas höher als die von Typ A.

Der prozentuale Anteil an älterem Knochengewebe, war im implantatfernen Bereich immer höher als direkt am Interface. Diese Werte sind in Tabelle 15 nachzulesen. Zu Beginn der Einheilphase nahm der Anteil an älterem Knochengewebe im implantatfernen Bereich ab. In der Zeit von vier bis acht Wochen blieb er bei Typ A fast gleich (4 Wochen $33,8 \pm 6,5\%$; 8 Wochen $34,3 \pm 12,6\%$) während er bei Typ B anstieg (4 Wochen $23,6 \pm 5,2\%$; 8 Wochen $34,3 \pm 12,6\%$). Im implantatnahen Gewebe betrug der maximale Durchschnittswert $34,7 \pm 0,3\%$ (Typ B, null Wochen) und der minimale $9,8 \pm 6,1\%$ (Typ A, acht Wochen). Hingegen konnte man den maximalen Wert im implantatfernen Gewebe bei $45,6 \pm 6,0\%$ (Typ B, null Wochen) beobachten, den minimalen bei $23,6 \pm 5,2\%$ (Typ B, vier Wochen).

Tabelle 14: Prozentualer Anteil neu gebildeter Knochenmatrix im implantatnahen und implantatfernen Bereich (histomorphometrische Auswertung, Mean Values mit Standardabweichungen)

		New Matrix %	
Woche	Typ	Implantat	Surrounding
0	A	23,6 ± 6,9	13,8 ± 2,6
0	B	24,8 ± 11,1	16,6 ± 7,6
2	A	40,1 ± 7,1	25,0 ± 12,2
2	B	45,3 ± 13,3	23,9 ± 6,4
4	A	54,2 ± 8,0	29,4 ± 11,7
4	B	54,0 ± 4,4	29,9 ± 8,6
8	A	59,0 ± 4,9	41,6 ± 12,3
8	B	61,2 ± 15,6	42,7 ± 12,1

Tabelle 15: Prozentualer Anteil des älteren Knochengewebes im implantatnahen und implantatfernen Bereich (histomorphometrische Auswertung, Mean Values mit Standardabweichungen)

		Old Matrix %	
Woche	Typ	Implantat	Surrounding
0	A	33,8 ± 5,1	45,4 ± 6,6
0	B	34,7 ± 0,3	45,6 ± 6,0
2	A	19,6 ± 10,2	42,1 ± 17,0
2	B	14,6 ± 9,3	37,4 ± 17,4
4	A	16,5 ± 4,3	33,8 ± 6,5
4	B	13,9 ± 7,7	23,6 ± 5,2
8	A	9,8 ± 6,1	33,1 ± 10,0
8	B	19,5 ± 15,7	34,3 ± 12,6

4.9 Elektronenmikroskopaufnahmen

Die Messung des BIC mittels Aufnahmen mit einem Elektronenmikroskop zeigte weder im BIC total, noch im BIC trabekulär signifikante Unterschiede zwischen Implantat Typ A und Implantat Typ B innerhalb einer Wochengruppe. Die Durchschnittswerte sind in Tabelle 16, sowie in Diagramm 5 dargestellt.

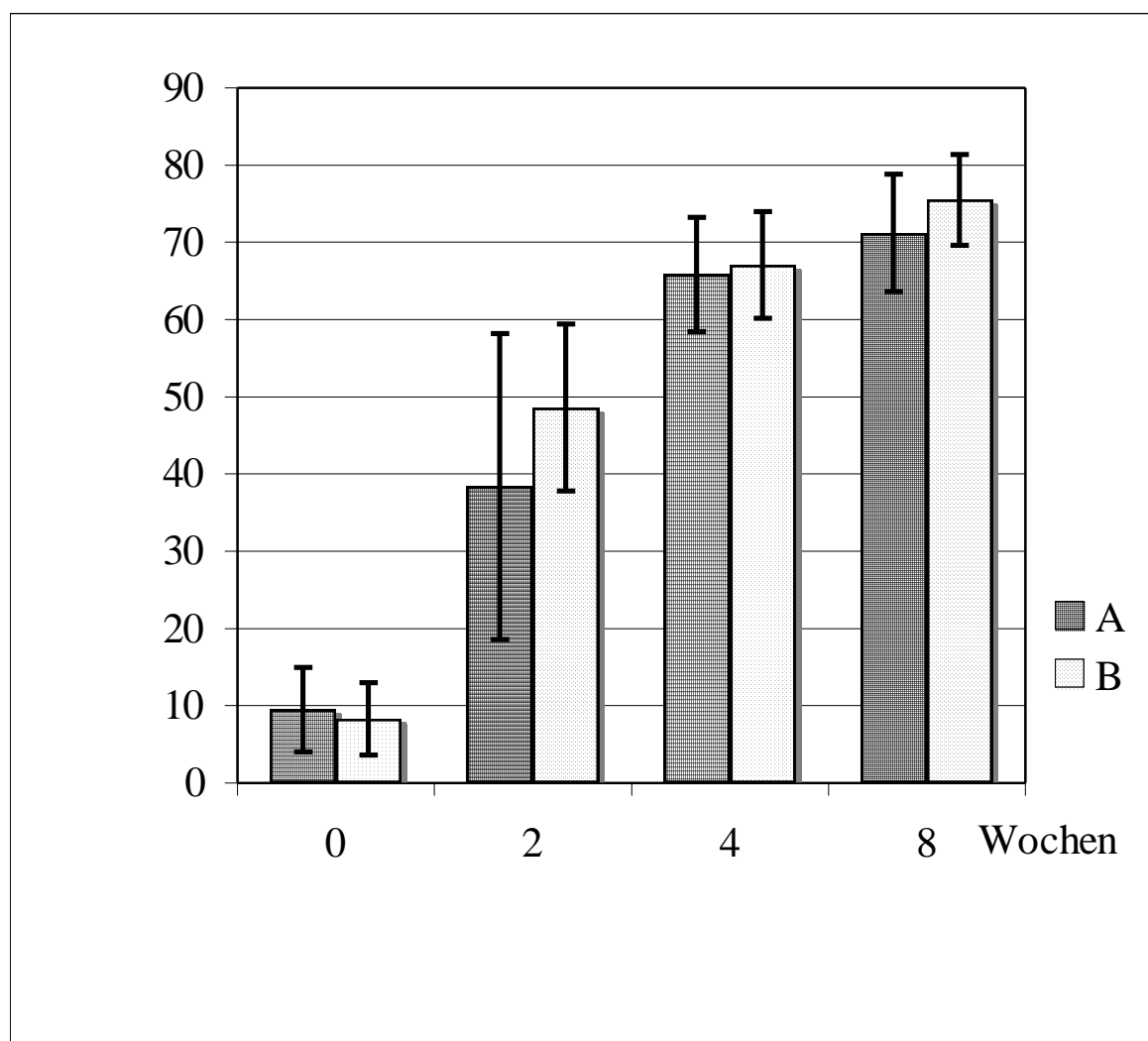
Der kleinste gemessene Mean Value des BIC total betrug $8,3 \pm 4,7$ % (Typ B, null Wochen), während der größte gemessene Wert $75,5 \pm 5,9$ % (B, acht Wochen) war. Bei Betrachtung der Ergebnisse zeigte sich, dass der gemessene BIC total umso höher war, je länger die Einheilphase gedauert hatte. In den zwei, vier und acht Wochengruppen, waren die Werte von Implantat Typ B etwas höher als die von Typ A (siehe Tabelle 16). Auffällig war, dass die der gemessene BIC total von Woche null zu Woche zwei, und von Woche zwei zu Woche vier stärker zunimmt, als von vier bis acht Wochen. Die Werte von Woche zwei unterschieden sich bei Typ B signifikant zu denen von Woche null ($p = 0,001$). Im Vergleich unterschied sich nur Typ A signifikant ($p = 0,002$) von Woche zwei zu Woche vier. Der Anstieg der Werte der Wochen acht und vier verlief bei keinem Implantattyp signifikant.

Bei der Auswertung des BIC trabekulär wurde der kleinste Durchschnittswert bei Typ B in der null Wochengruppe gefunden. Dieser Wert betrug $1,1 \pm 1,5$ %. Der größte, in dieser Auswertungsvariante gemessene BIC lag bei $80,0 \pm 9,6$ % (Typ A, acht Wochen). Auch in dieser Auswertungsvariante konnte festgestellt werden, dass die Werte des BIC trabekulär von Woche null bis Woche vier stärker zunahmen, als von Woche vier zu Woche acht. So zeigten sich der BIC trabekulär von Typ B in Woche zwei signifikant höher als in Woche null ($p = 0,001$). Der BIC trabekulär war bei Typ A in Woche vier signifikant höher als in Woche zwei ($p = 0,002$).

Tabelle 16: Ergebnisse BIC total und BIC trab des BSEM (Mean Values (%) mit Standardabweichungen)

	Implantat	0 Wochen	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen
BIC total	A	9,5 ± 5,5	38,4 ± 19,8	65,8 ± 7,4	71,2 ± 7,6
	B	8,3 ± 4,7	48,6 ± 10,8	67,1 ± 6,9	75,5 ± 5,9
BIC trab	A	4,2 ± 1,4	36,7 ± 20,8	68,6 ± 6,2	80,0 ± 9,6
	B	1,1 ± 1,5	51,4 ± 13,8	69,7 ± 6,7	76,3 ± 6,7
Proben	A	2	6	6	6
	B	2	6	6	6

Diagramm 5: Ergebnisse Messung BIC total (Mean Values % mit Standardabweichungen) mittels BSEM



5 Diskussion

In der vorliegenden Studie sollte der Einfluss von zwei verschiedenen, chemisch modifizierten Oberflächen von Dentalimplantaten hinsichtlich ihrer Osseointegration vergleichend beurteilt werden. Dazu wurden eine feinkristalline, funkenanodisierte Titanoberfläche (TiUnite®, Nobel Biocare, Göteborg, Schweden) und eine sandgestrahltsäuregeätzte, hydrophile Titanoberfläche (SLActive®, Straumann AG, Basel, Schweiz) erstmalig an Implantaten mit gleichem Makrodesign am Tiermodell analysiert. Sechs weiblichen Schafen wurden operativ jeweils sechs Implantate von jedem Typ eingesetzt und die Osseointegration nach zwei, vier und acht Wochen beurteilt. Um die Ergebnisse objektiv vergleichen zu können wurde jede Analysemethode genau gleich am Kadaverknochen für beide Implantate durchgeführt und ausgewertet. Der Kadavertest wurde als null Wochengruppe betrachtet und diente als Bezugspunkt für die in den Versuchen erhaltenen Werte. Die Auswertungsmethoden schlossen biomechanische (Removal Torque Test, Resonanzfrequenzanalyse) und histologische Experimente (Vermessung des Implantat-Knochen-Kontakts im Lichtmikroskop, Elektronenmikroskop (Back Scatter) und μ CT, sowie Histomorphometrie und polychrome Fluoreszenzmarkierung) ein. Alle Implantate konnten ohne Zwischenfälle eingesetzt werden und zeigten in der RFA eine gute Primärstabilität. Bei den Schlachtungen waren alle Implantate an ihrer Position auffindbar und stabil im Knochen. Eine gleichmäßig ansteigende Mineralisierung des Gewebes um das Implantat konnte im Verlauf der verschiedenen Einheilphasen bei beiden Implantattypen histologisch dokumentiert werden. Dabei zeigten sich in den histologischen Auswertungsmethoden keine signifikanten Unterschiede zwischen A und B innerhalb eines Zeitintervalls. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen A und B konnten daher innerhalb eines Zeitintervalls nur in den biomechanischen Tests erhoben werden. In den Removal Torque Tests war das maximale Drehmoment von Implantat B in der vier Wochengruppe signifikant höher als das von A ($p=0,001$). Bei der Erfassung des ISQ hatte Implantat Typ A in der acht Wochengruppe einen signifikant höheren Wert als B ($p=0,000$), siehe Tabelle 17.

Die erhobenen Daten und Ergebnisse in dieser Studie zeigen, dass im Hinblick auf das osseointegrative Verhalten der beiden unterschiedlichen Oberflächenmodifikationen keine entscheidenden Unterschiede festgehalten werden können. Obgleich die biomechanische Analyse nach 4 Wochen einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen A und B offenbarte, konnte dieses Resultat in der histologischen Untersuchung nicht untermauert werden. Von daher sind die unterschiedlichen und zum Teil gegenläufigen Tendenzen und Ergebnisse im zeitlichen Verlauf von null, zwei, vier und acht Wochen zwischen den beiden

Oberflächenmodifikationen, nicht singulär, sondern im Gesamtkontext zu beurteilen. Neben der geringen Anzahl an Testkörpern sind vor allem die diversen Analyseverfahren, deren jeweiliger Schwerpunkt nur einen kleinen Teilaspekt beleuchten kann, kritisch und mit Vorsicht zu evaluieren. Nur dadurch lässt sich letztendlich eine umfassende Interpretation ermöglichen, die neben den individuellen und zeitlichen Vor- und Nachteilen der beiden Oberflächenmodifikationen, auch eine Gesamtbeurteilung über den Erfolg und das Potential zu lässt.

Tabelle 17: Übersicht über die in der Studie qualitativ erfassten Daten hinsichtlich signifikanter Unterschiede

		Signifikant höherer Wert			
Experiment		0 Wochen	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen
Histologie	µCT	-	-	-	-
Histomorphometrie Toluidinblau	NM%	-	-	-	-
	OM%	-	-	-	-
Toluidinblau	BIC trab	-	-	-	-
	BIC total	-	-	-	-
	BIC cort	-	-	-	-
BSEM	BIC total	-	-	-	-
	BIC trab	-	-	-	-
Biomechanik					
RFA (Sacrifice)		-	-	-	A (p=0,000)
Torque Test		-	-	B (p=0,001)	-

In dieser Übersicht wird ersichtlich, dass statistisch signifikante Unterschiede zwischen Typ A und B innerhalb eines Zeitintervalls nur in den biomechanischen Tests erhoben wurden.

5.1 Das ovine Beckenmodell zur Beurteilung der Osseointegration von Dentalimplantaten

Die Entscheidung über die Auswahl des Tiermodells ist für jede Studie, die Versuchstiere einschließt, von größter Bedeutung. Dadurch soll unter anderem vermieden werden, dass eine übermäßige Anzahl an Tieren verwendet werden muss sowie sichergestellt werden, dass ethische und gesetzliche Richtlinien eingehalten werden. Die Grundsätze von „Reduce“, „Refine“ und „Replace“ sind bei der Suche nach dem geeigneten Versuchstier eine wichtige Voraussetzung⁷³. Letztendlich sollte aber immer die Übertragbarkeit des Modells auf die Situation am Menschen im Zusammenhang mit der durch den Versuchsaufbau gestellten Hypothese als wichtigstes Kriterium für die Wahl des Tiermodells gelten⁷⁴.

Die Knochenheilung und osseären Umbauvorgänge des Schafes weisen in vielen Aspekten Parallelen zu der des Menschen auf^{75,76}.

Für den Versuch wurden adulte Tiere gewählt, um einer Verzerrung der Ergebnisse durch eine andere Metabolisierungsrate des Knochens bei Jungtieren vorzubeugen.

Das Beckenmodell im Schaf wurde speziell gewählt, weil das Os ilium ähnliche Knocheneigenschaften wie der Kieferknochen aufweist und um eine Kontamination durch die Mundflora zu verhindern. Im Os ilium ist es zudem möglich eine hohe Anzahl an Implantaten einzusetzen. Damit erreicht man, dass die zu vergleichenden Implantate in einem relativ großen Gebiet annähernd gleicher Knochenqualität auf ihre Fähigkeit zur Osseointegration geprüft werden können.

Das Schaf ist nicht nur in der Orthopädie, sondern inzwischen auch in der dentalen Implantologie und ein weithin anerkanntes Versuchstier⁷⁶, wie die steigende Anzahl von Studien am Schafmodell verdeutlicht. Speziell das ovine Beckenmodell hat sich in vorangegangenen Publikationen hervorragend bewährt⁷⁷⁻⁷⁹.

Alle eingesetzten Implantate heilten ohne Probleme in die Beckenknochen der Versuchstiere ein und waren post mortem ausnahmslos stabil an der ihnen bestimmten Position vorzufinden. Im Gegensatz zu früheren Studien am Beckenmodell⁷⁷⁻⁷⁹ konnten bei der Betrachtung der histologischen Schnitte in der Lichtmikroskopie keine einheitliche Abnahme der Dicke der Kortikalis hinsichtlich aufsteigender Zahl der Positionen beobachtet werden. Die Dicke der Kortikalis war zwar nicht bei jedem einzelnen Schnitt gleich, verhielt sich jedoch bei allen Präparaten in einem einheitlichen Rahmen. In den erwähnten, früheren Publikationen wurden zehn bzw. neun Positionen am Beckenknochen besetzt. Dabei kommt man unweigerlich näher an die Darmbeinsäule heran, deren Querschnitt im Vergleich zur eher platten Darmbeinschaukel zunehmend runder wird. In der vorliegenden Studie wurden nur sechs

Implantate in die Darmbeinschaukel gesetzt (Abb. 6) und befanden sich deswegen auch fast ausschließlich in dieser. Dies kann die gleichmäßige Dicke der Kortikalis in den Präparaten möglicherweise erklären, und sollte bei zukünftigen Studien beachtet werden.

Die bei der RFA gemessene Primärstabilität der Implantate intra operationem lag bei allen Versuchstieren zwischen $64,1 \pm 8,8$ und $76,3 \pm 4,2$ (ISQ), bei einer Probenzahl von $n = 66$. Die einzelnen ISQ zum Zeitpunkt des chirurgischen Eingriffes sind detailliert in Tabelle 8 dargestellt. Zwischen diesen Werten waren keine signifikanten Abweichungen zu finden. Dies zeigt, dass es im Beckenknochen des Schafes nicht nur möglich ist eine hohe Anzahl Implantate einzubringen, sondern das auch mit einer gleichmäßig hohen und zuverlässigen Primärstabilität. Damit konnten für einen Vergleich zwischen zwei Oberflächen hinsichtlich ihrer Osseointegration für beide Implantattypen sowie auch in den verschiedenen Wochengruppen annähernd gleiche Ausgangsbedingungen am gewählten Tiermodell geschaffen werden.

Um die Verhältnisse im ovinen Beckenknochen zum Zeitpunkt der Implantation histologisch und biomechanisch nachvollziehen zu können wurden für jedes Experiment, das am lebenden Tier durchgeführt werden sollte, derselbe Test auch an Kadaver vollzogen. Die in den verschiedenen Versuchen erhaltenen Daten bekommen so einen relativen Bezugspunkt, der die Aussagekraft des individuellen Werts nicht zu einem absoluten Nullpunkt, sondern einem realen Ausgangswert definiert. Durch die zeitlich lückenlose Dokumentation der Osseointegration konnte eindrucksvoll dargestellt werden, wie groß der Zugewinn des Mineralisierungsgrades um das Implantat wirklich war. Ein BIC total von $48,6 \pm 10,8\%$ (Gruppe B) gemessen im BSEM nach zwei Wochen lässt sich daher kritischer bewerten, wenn man weiß, dass der BIC total desselben Implantattyps am Kadaver $8,3 \pm 4,7\%$ betrug, als wenn man nur den bloßen Wert betrachten kann. Die hier erhaltenen, und später genauer aufgezeigten Ergebnisse runden nicht nur den Vergleich zwischen Typ A und B ab, sondern stellen eindrucksvoll die Fähigkeit des ovinen Beckenmodells zur Darstellung der frühen periimplantären Einheilphase dar.

Bei der Bewertung der Ergebnisse sollten einem immer die Grenzen des Tierversuchs hinsichtlich einer Übertragbarkeit auf die Verhältnisse am Menschen bewusst sein. Kein noch so sorgfältig ausgewähltes Tiermodell ist in der Lage, die Verhältnisse am humanen Organismus ohne Einschränkungen repräsentieren zu können.

Als Tiermodell zur Analyse der Osseointegration von Dentalimplantaten dienen oft Nager, in deren Femurkondylus oder Tibia das Testimplantat eingesetzt wird⁸⁰⁻⁸³. Trotz der Vorteile dieses Versuchstieres in Umgang und Haltung eignen sich Nager aufgrund ihrer geringen

Größe nur bedingt, um die Verhältnisse am Kiefer des Menschen darzustellen⁸⁴. Aufgrund der geringen Größe des Tieres beträgt die maximale Anzahl an Implantaten, die in Femur oder Tibia eines Kaninchens eingebracht werden können lediglich sechs Implantate pro Tier⁸⁴. Auch die starken anatomischen Abweichungen am Knochen des Kaninchens im Vergleich zum Menschen stellen einen erheblichen Nachteil dieses Tiermodells dar⁸⁴. Das Knochen Remodelling findet beim Kaninchen in einem Drittel der Zeit, die es beim Menschen dauern würde, statt⁸¹. Aus diesen Gründen ist das Nagermodell zur Beurteilung der Osseointegration von Dentalimplantaten hinsichtlich ihrer Verwendung am Menschen nur bedingt geeignet.

Zur Beurteilung von Hart- und Weichteilgewebe um Zahnimplantate werden in der Forschung oft Hunde und Minipigs als Tiermodell herangezogen. Der Knochen des Hundes weist in Knochenzusammensetzung und Knochenbau, wie zum Beispiel der Anordnung des Havers'schen Systems von den gängigen Tiermodellen, abgesehen vom Primaten, die meisten Parallelen zum menschlichen Knochengewebe auf^{76,84,85}. Allerdings läuft das Knochen Remodelling beim Hund zweieinhalbfach schneller ab als beim Menschen⁸⁶. Diese Tatsache darf nicht dazu verleiten, in der Hundestudie erzielte Ergebnisse einer überdurchschnittlichen Fähigkeit zur Osseointegration eines getesteten Implantates unvoreingenommen auf die Verhältnisse am Menschen zu übertragen. Sowohl Hund als auch Minipig bieten den Vorteil, dass die Möglichkeit besteht, die dem Tier eingesetzten Implantate auch unter Belastung zu testen. Die Verbesserung der Oberflächen von Dentalimplantaten zielt bekanntlich auf eine möglichst schnelle Osseointegration ab. Diese Implantate sollen neben dem ästhetischen Aspekt vorrangig ihre Funktion als Zahnersatz wahrnehmen, und müssen deshalb den Belastungen beim Kauen standhalten. Außerdem muss in der praktischen Anwendung am Menschen eine adäquate Verbindung nicht nur zwischen Knochen und Implantat, sondern auch zwischen oralem Weichgewebe und Implantat gegeben sein. Diese Bedingungen können am gängigen Tiermodell bis heute nur im Kiefer von Hund und Minipig ausreichend simuliert werden. In diesem Zusammenhang muss jedoch erwähnt werden, dass viele Studien an Hund oder Minipig ohne Belastung der Implantate durchgeführt werden. Die Maulhöhle als Lokalisation der Testimplantate hätte sich bei einem Vergleich von Dentalimplantaten der ausschließlich den Einfluss der verschiedenen Oberflächen auf die Osseointegration beurteilen möchte als ungeeignet erwiesen. Die unvermeidliche Kontamination mit den Mikroorganismen der normalen Maulflora hätte den objektiven Vergleich der Oberflächen unmöglich gemacht, da man nicht mehr hätte unterscheiden können, welche Vorgänge sich im

periimplantären Knochen aufgrund der Implantatoberfläche abspielen und welche Ergebnisse von entzündlichen Prozessen sind. Im Beckenknochen des Schafes ist es hingegen möglich, die Dentalimplantate unter keimfreien Bedingungen einzusetzen und dies auch während der gesamten Dauer der Studie beizubehalten.

Das gleichmäßige histologische Erscheinungsbild der einzelnen Positionen, die komplikationslose Einheilphase und die Tatsache, dass bei allen Versuchstieren eine durchwegs hohe Primärstabilität der eingesetzten Implantate ohne statistisch signifikante Unterschiede erzielt werden konnte, spricht ohne Zweifel für die Berechtigung dieses Knochenmodells am Schaf zum objektiven Vergleich von Oberflächen von Dentalimplantaten hinsichtlich ihrer Osseointegration.

5.2 Beurteilung der Ergebnisse der BIC Messung mittels μ CT

Bei der Betrachtung der Ergebnisse der BIC Messung mittels Mikrocomputertomographie (μ CT) wurden zwischen Implantat A und B zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede errechnet. Auch die zweimalige Messung jedes Implantats als BIC total und BIC trabekulär konnte keine signifikante Abweichung der Werte aufzeigen.

Trotzdem fallen hinsichtlich der BIC total Messungen im zeitlichen Verlauf einige Besonderheiten auf. Der prozentuale Anteil des BIC total verläuft bei beiden Implantaten im Zeitraum zwischen zwei und acht Wochen fast ohne Zugewinn. Dementsprechend müssten also die osseointegrativen Vorgänge zwischen null und zwei Wochen rapide ansteigen, um dann zwischen zwei und acht Wochen kaum noch Aktivität zu zeigen. Im Gegensatz dazu sah man bei allen anderen Methoden (Lichtmikroskopie, Elektronenmikroskopie) zur BIC Messung (BIC total und BIC trabekulär) im zeitlichen Verlauf eine kontinuierliche, meist sogar signifikant ansteigende Zunahme des Knochenimplantatkontakts. Auch die in der Histomorphometrie gemessenen Werte für den prozentualen Anteil der neu gebildeten Knochenmatrix stiegen mit längerer Einheilphase stetig an. Abgesehen davon wird bei Betrachtung der Werte deutlich (Tabelle 12), dass bei Implantat B der gemessene BIC total nach zwei Wochen höher war als nach acht Wochen. Hinsichtlich der fehlenden Übereinstimmung dieses Verlaufs bei Betrachtung der anderen BIC Analyseverfahren sowie der Histomorphometrie sind auch diese Ergebnisse kritisch zu beurteilen.

Die Messung des Knochenkontakts am Implantatinterface mittels μ CT wird in der Literatur oft am Nagermodell angewendet. Gleichzeitig ersetzt häufig die BIC Messung im μ CT eine Licht- oder Elektronenmikroskopische Auswertung^{87,88}. Eine Bestimmung von BIC Werten

im μ CT am ovinen Knochen wird in der Literatur nicht beschrieben. Hingegen gibt es Publikationen zur Evaluierung der periimplantären Knochenreaktion am Femurkondylus der Ziege in der BIC Werte mittels Histologie und μ CT vergleichend ermittelt werden. Hierbei wurde, in Übereinstimmung mit der vorliegenden Studie festgestellt, dass die konventionelle Ermittlung des BIC am histologischen Präparat der am μ CT überlegen ist, da der Tomograph ausgerechnet am Interface nicht genau zwischen Knochen und Implantat unterscheiden kann⁸⁹. Auch in einer weiteren Studie zur Untersuchung von spongiösem Knochen an Titanimplantaten am Femurkondylus der Ziege ergab, dass sich das μ CT wohl für die Histomorphometrie eignet, jedoch für die Ermittlung des BIC ungeeignet ist. Knochengewebe direkt am Interface konnte auch in dieser Studie im μ CT nicht dargestellt werden⁹⁰.

Als mögliche Ursache für die Diskrepanzen bei der Messung des BIC im μ CT kommt die Streustrahlung am Interface des Implantats in Frage. Es ist wahrscheinlich, dass die Streustrahlen den winzigen Messbereich zwischen Knochen und Implantat überlagert haben und so das Ergebnis verfälscht wurde. In der Literatur wird beschrieben, dass auf den Schnittbildern des μ CT zwar die Struktur der Trabekel genau dargestellt zu sein scheint, es jedoch nahe am Interface zu einer verschwommenen Zone kommt, die bei der Berechnung des BIC den Wert fälschlicherweise in die Höhe treibt⁸⁹. Hier wird nicht nur die Streustrahlung sondern auch die Implantatsgeometrie als Ursache in Erwägung gezogen. Zusammenfassend wurde festgestellt, dass das μ CT als Methode zur Erfassung des BIC in dieser Studie nicht geeignet war, ebenso wenig wie zur Dokumentation der Osseointegration. Auch wenn es signifikante Unterschiede zwischen A und B bei dieser Auswertung gegeben hätte, hätten diese aufgrund der Diskrepanz der histologischen Messungen mit der Licht- und Elektronenmikroskopie kritisch betrachtet werden müssen.

Die Untersuchungsmethodik müsste weiter verfeinert werden, bevor der Vorteil einer dreidimensionalen kompletten Erfassung des Interface des Implantats am Knochen im μ CT gewinnbringend genutzt werden kann.

5.3 Beurteilung der Ergebnisse des Removal Torque Tests

Die maximalen Drehmomente der in der Studie verwendeten Implantate wurden mittels Removal Torque Test ermittelt. Alle Proben wurden plangemäß am Tag nach der Schlachtung ausgewertet. Von den in den Knochenwürfeln sitzenden Implantaten wurden zwölf beim Heraussägen aus dem Schlachtknochen leicht angeschnitten, jeweils sechs vom Typ A und sechs vom Typ B. Im Detail handelte es sich dabei um vier Proben aus der vier

Wochengruppe, davon waren zwei vom Typ B und zwei vom Typ A, drei Proben aus der acht Wochengruppe, davon waren eine vom Typ A und zwei vom Typ B, zwei Proben der zwei Wochengruppe, davon war eine vom Typ A und eine vom Typ B. Im Kadaversversuch wurden drei Implantate angesägt, jeweils zwei vom Typ A und eines vom Typ B. Zweifelsohne haben die angesägten Implantate im Ausdrehversuch einen Nachteil, da durch den Sägeschnitt die Verbindung zwischen Knochen und Implantat bereits teilweise gelöst worden war bevor der Ausdrehversuch begann.

Bei der Operation der zwei Wochengruppe mussten drei Implantate von Typ A, die für den Torquetest bestimmt waren, mit einem niedrigeren Drehmoment als für die Studie vorgesehen ($< 35\text{Ncm}$) eingedreht werden. Diese Proben hatten gegenüber denen mit im Studiendesign vorgesehenem Eindrehmoment andere Ausgangsbedingungen für einen späteren Ausdrehversuch. In der acht Wochengruppe wurde ein Implantat von Typ A mit einem höheren Drehmoment als für die Studie vorgesehen eingedreht werden, nämlich $> 45\text{Ncm}$. Diese Modifikationen waren aufgrund der lokalen Knochenbeschaffenheit nötig um eine ausreichende Primärstabilität der betreffenden Implantate zu ermöglichen. Diese unterschiedlichen Eindrehmomente könnten sich auf die Ergebnisse des Ausdrehversuchs in der zwei Wochengruppe auswirken. In der acht Wochengruppe dürften sie hingegen aufgrund der langen Einheilphase nur eine untergeordnete Rolle hinsichtlich des Ergebnisses des Torque Tests spielen.

Schon in den Vorversuchen des Removal Torque Tests ergab sich das Problem, dass das Interface des vom Hersteller kommerziell vertriebenen vierkant Innengewinde von Typ B ab einem Drehmoment von ungefähr 1200Nmm begann sich plastisch zu verformen. Da dieser Wert unterhalb der im Experiment erwarteten Drehmomente lag, wurde ein Ausdrehinstrument aus Stahl eigens für die Studie angefertigt, das eine stärkere Verbindung am Interface leisten konnte. Dadurch konnte das Innengewinde einem Ausdrehmoment von 1500Nmm standhalten. Implantat Typ A zeigte keine Probleme mit dem Interface, denn es zeigte sich im Vorversuch, dass diese Verbindung erst über 3000Nmm versagte.

Die schwache Verbindung zwischen Ausdrehmoment und Implantat führte dazu, dass diese in der acht Wochengruppe bei mehr als der Hälfte der Implantate von Typ B versagte, bevor das maximale Drehmoment gemessen werden konnte. Da das Interface jeweils versagte, bevor die Verbindung zwischen Implantat und Knochen gelöst worden war, ist davon auszugehen, dass die Maximalwerte der betroffenen Implantate höher sein müssten als sie gemessen werden konnten. Das maximale Drehmoment der Implantate vom Typ B konnte in dieser Studie in diesem Zeitintervall nicht ausreichend bestimmt werden. In diesen Messungen wurde wohl

eher das maximale Drehmoment, welches das Interface aushält ermittelt. Bei den Implantaten vom Typ A kam es in der acht Wochen Gruppe zu keinen Veränderungen am Interface.

5.4 Beurteilung und Diskussion der Ergebnisse der histologischen und biomechanischen Auswertung hinsichtlich der Osseointegration der verglichenen Oberflächen

Die beiden mittels Lichtmikroskopie (LM) und Elektronenmikroskopie (BSEM) erhobenen Daten zur Ermittlung des BIC total lassen sich sehr gut miteinander vergleichen, da diese Daten nach der exakt gleichen Messmethode, randomisiert, von unterschiedlichen Personen ermittelt wurden. Außerdem wurden die Daten jeweils am exakt gleichen Präparat ermittelt. Dies ermöglichte eine sehr objektive Bewertung. Mit keiner der beiden Techniken konnte ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des BIC total innerhalb eines Zeitintervalls zwischen Implantat A und B demonstriert werden.

Allerdings konnte im BSEM das Knochen Remodelling hinsichtlich der Implantattypen spezifiziert werden, denn es wurde festgestellt, dass Implantat A sich im Intervall zwischen zwei und vier Wochen hinsichtlich des BIC total signifikant steigert, während sich B im Intervall von null bis zwei Wochen in seiner Aktivität signifikant steigert. Dieses Ergebnis konnte im Lichtmikroskop nicht beobachtet werden. Während in der Toluidinblau Färbung der Mineralisierungsgrad anhand Blautönung und Struktur des Knochengewebes subjektiv ermittelt werden muss, kann am mit dem BSEM ermittelten Bild eindeutig zwischen mineralisiertem und nicht mineralisiertem Gewebe unterschieden werden. Dies führt hinsichtlich der Genauigkeit der erfassten Knochen-Implantat-Kontaktlinie zu erheblichen Vorteilen. Bei den in dieser Studie ermittelten Werten ist der Unterschied zwischen BIC Messung in Lichtmikroskop und BSEM am deutlichsten bei den Werten der null Wochengruppe zum Tragen gekommen. Da in der null Wochengruppe das Implantat in ein Schlachtbecken eingesetzt wurde, kann sich hier keine neue Knochenmatrix gebildet haben und es wurde lediglich der durch die Geometrie des Implantates bedingte Knochenkontakt im Bohrkanal gemessen. Bei Implantat A betrug der BIC total der null Wochengruppe im BSEM ermittelt $9,5 \pm 5,5\%$, im Lichtmikroskop dagegen $24,8 \pm 5,1\%$. Implantat B hatte zum selben Zeitpunkt im BSEM einen BIC total von $8,3 \pm 4,7\%$, im Lichtmikroskop $28,4 \pm 6,8\%$. Beim quantitativen Vergleich der mit Toluidinblau gefärbten Präparate mit den im BSEM entstandenen Bildern konnte man sehen, dass die Auflösung des BSEM vor allem im kortikalen Bereich deutlich besser ist. Der Spalt zwischen Bohrkanal und Knochen konnte in

der lichtmikroskopischen Aufnahme nicht wahrgenommen werden, ebenso wie zahlreiche Kontaktstellen von trabekulärem Knochen mit dem Implantat nur in der Toluidinfärbung, aber nicht im BSEM Präparat erkennbar waren. Es kommt erschwerend dazu, dass in der Toluidinblau Färbung auch nicht mineralisierte Kollagenfasern dargestellt werden, deren Mineralisierungsgrad subjektiv anhand der Blautönung beurteilt werden muss. Unter Umständen hingen bei der Vorbereitung des Implantatbetts aus dem Gewebe ausgerissene Kollagenfasern in den Bohrkanal des Schlachtpräparats, die im histologischen Schnitt dann als Knochenkontakt empfunden wurden.

In der histologischen Auswertung zeigten sich in allen Untersuchungsmethoden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Oberflächen innerhalb eines Zeitintervalls. Betrachtet man den Verlauf des lichtmikroskopisch ermittelten BIC so fällt auf, dass sowohl A als auch B eine gleichmäßige Zunahme des BIC trabekulär aufweisen können. Die für BIC total im Lichtmikroskop gemessenen Werte verhalten sich geringfügig anders, denn zwischen vier und acht Wochen steigt der Wert von B an, während der von A abfällt (siehe Tabelle 13). Dies begründet sich durch den Verlauf des in der Kortikalis gemessenen BIC, denn der wird in den BIC total mit einberechnet (siehe Abb. 8). Der BIC cortex fällt bei beiden Oberflächen initial von Woche null zu zwei ab, um dann im Verlauf bis Woche acht wieder anzusteigen. Jedoch nimmt der BIC cortex von Typ B in der Zeit von vier bis acht Wochen stark zu (4 Wochen= $50,2 \pm 13,2\%$; 8 Wochen= $70,6 \pm 8,2\%$), während Typ A im gleichen Zeitraum nahezu unverändert bleibt (4 Wochen= $49,0 \pm 17,2\%$; 8 Wochen $48,6 \pm 18,5\%$). Diese Beobachtung lässt sich auch in der Literatur bestätigt vorfinden, denn die Heilung von Knochengewebe im kortikalen Teil etwas anders beschrieben als im spongiösen. So muss in der Kortikalis mineralisiertes, gefäßloses, nekrotisches Gewebe resorbiert werden bevor sich an der Oberfläche eines Dentalimplantats neuer Geflechtknochen bilden kann. In der Spongiosa beginnt die Bildung von Geflechtknochen und somit die Osseointegration bereits im frühen Heilungsprozess⁸⁰. Zusätzlich zeigt kortikaler Knochen eine im Vergleich zur Spongiosa langsamere Remodellierungsrate⁹¹, die auch etwas anders ablaufen scheint^{82,92}. Ein Anstieg des BIC wurde im spongiösen früher beobachtet als im kortikalen Knochen⁸³.

Vergleicht man den Verlauf der BIC Werte im kortikalen Knochen hinsichtlich der verschiedenen Oberflächen, so scheint Oberfläche B früher mit der Mineralisierung in diesem Gewebsabschnitt zu beginnen als A. Das könnte auf die hydrophile Oberfläche zurückzuführen zu sein. Unter Umständen wirkt sich die Hydrophilie in der Kortikalis später aus als in spongiösem Knochen. In der polychromen Fluoreszenzmarkierung wurde die Aktivität des Knochenstoffwechsels nach zwei, vier und acht Wochen dokumentiert. Ein

stärkeres Remodelling in der Kortex von B im Gegensatz zu A konnte in der quantitativen Analyse der Fluoreszenzschnitte der Tetracyclinmarkierung (acht Wochen post OP) jedoch nicht nachgewiesen werden. Beide Implantattypen zeigten eine gleich starke Aktivität am Knochen-Implantat Interface in den acht Wochengruppen, sowohl im kortikalen als auch im spongiösen Gewebe. Nach Kenntnis der Autorin wurden die unterschiedlichen Auswirkungen hydrophiler Oberflächen speziell in Kortex und Spongiosa noch nicht genauer untersucht und veröffentlicht.

Der BIC wurde im BSEM für die Kortikalis nicht gesondert ausgewertet. Trotzdem zeigte sich ihr Einfluss im Verlauf des im Elektronenmikroskop gemessenen BIC total. Man kann zwar insgesamt den Verlauf von beiden Implantaten von null bis acht Wochen als stetige Zunahme des Mineralisierungsgrades betrachten, doch in der acht Wochengruppe liegt der BIC total von A ($71,2 \pm 7,6\%$) etwas niedriger als der von B ($75,5 \pm 5,9\%$). In diesen Werten könnte

sich die höhere Aktivität der Kortex bei B in diesem Zeitraum widerspiegeln.

In der zwei Wochengruppe ist der BIC total von B ($48,6 \pm 10,8\%$) deutlich höher als der von A ($38,4 \pm 19,8\%$). Dieses Ergebnis bestätigt sich in der Lichtmikroskopie, denn auch da ist der BIC total von B in der zwei Wochengruppe höher ($49,2 \pm 10,7\%$) als der von A ($47,5 \pm 8,5\%$). In der Auswertung der Histomorphometrie war der Anteil neuer Knochenmatrix (NM %) des implantatnahen Bereichs in der zwei Wochengruppe bei B ($45,3 \pm 13,3\%$) ebenfalls höher als bei A ($40,1 \pm 7,1\%$). Der elektronenmikroskopisch bestimmte BIC total hat bei Oberfläche B im Zeitraum von null bis zwei Wochen den größten Zugewinn (Wert Woche zwei signifikant höher als in Woche null $p = 0,001$), während A einen großen Zugewinn zwischen zwei und vier Wochen erfährt (Wert A vier Wochen signifikant höher als in Woche zwei $p = 0,002$). Bei der Auswertung des im Lichtmikroskop ermittelten BIC haben beide Implantate den größten Anstieg des Mineralisierungsgrades im Zeitraum von null bis zwei Wochen im spongiösen Knochen und zeigen nach acht Wochen in der Spongiosa ein sehr ähnliches Ergebnis (acht Wochen BIC trab A = $78,3 \pm 9,3\%$; B = $81,0 \pm 5,7\%$). Bei der histologischen Auswertung konnten vereinzelt Hinweise auf eine Bedeutung der Hydrophilie von Oberfläche B in der zwei Wochengruppe beobachtet werden. Diese zeigen jedoch höchstens eine Tendenz, denn signifikante Unterschiede zwischen Oberfläche A und B konnten in allen histologischen Auswertungsmethoden nicht gefunden werden.

In den aktuellen Studien am Hundemodell⁹³ und Minipig⁵⁶ wird die hydrophile Oberfläche B mit ihrem Vorgänger, derselben Oberfläche ohne hydrophile Eigenschaften verglichen. Der Vorteil der Hydrophilie wird hier vor allem in einer Zunahme des BIC in einem Zeitraum von

zwei und vier Wochen post OP beobachtet. Nach acht Wochen post OP konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich des BIC beobachtet werden. Eine biomechanische Auswertung wurde in diesen Studien nicht veröffentlicht.

Warum nun eine hydrophile Oberfläche bei der Osseointegration von Dentalimplantaten von Vorteil sein könnte, wird in der Literatur auf verschiedene Arten begründet. So könnte die Hydrophilie einer Oberfläche vor allem bei der initialen Benetzung mit Proteinen während der ersten Anlagerung von Zellen eine entscheidende Bedeutung haben^{54,94}. Diese These wird durch eine Studie unterstützt, in der humanes Plasmafibronektin in vitro eine höhere Adsorption an der hydrophilen sandgestrahl-säuregeätzten Oberfläche zeigt als an der nur sandgestrahl-säuregeätzten⁹⁵.

Obwohl Rauigkeit der Oberfläche die Osseointegration positiv beeinflusst scheinen kleine Gruben der Oberfläche des Implantates initial eine hydrophobe Wirkung zu haben, da sich Luft in diesen Poren festsetzen kann⁴¹. Die hydrophil modifizierte, sandgestrahl-säuregeätzte Oberfläche wird von der Produktion bis zum Einsetzen in den Kiefer feucht und unter Schutzgasatmosphäre gehalten. So möchte man verhindern, dass sich Luftblasen in kleinen Gruben der Oberfläche sammeln und schafft somit eine größere Oberfläche für Anhaftung von Proteinen⁴¹.

Unter Umständen sind es die Unterschiede in der molekularen Struktur der beiden Oberflächenvarianten, die sich in den geringfügig unterschiedlichen BIC Verläufen andeuten. In der vorliegenden Studie findet man den ersten publizierten Vergleich einer funkenanodisierten mit einer hydrophilen, sandgestrahl-säuregeätzten Oberfläche anhand Dentalimplantaten desselben Makrodesigns in der frühen Einheilphase.

Der bei beiden Oberflächen in den verschiedenen histologischen Auswertungen festgestellte tendenzielle Anstieg des Mineralisierungsgrades zeigt sich auch im zeitlichen Verlauf der Removal Torque Werte von null bis acht Wochen (Tabelle 10). B hat in der elektronenmikroskopischen und lichtmikroskopischen Auswertung der acht Wochengruppe den höheren Wert als A. Das maximale Drehmoment dieses Zeitraums ist jedoch in diesem Zeitintervall bei Implantat A ($1844,5 \pm 247,7 \text{ Nmm}$) höher gemessen worden als bei B ($1783,6 \pm 120,7 \text{ Nmm}$). Dies ist darauf zurück zu führen, dass bei der Hälfte der Implantate von Typ B in der acht Wochengruppe das Interface des Ausdrehinstruments der Torquemaschine versagte und das maximale Drehmoment nicht korrekt ermittelt werden konnte. Der größte Zugewinn an Torque Werten zeigt sich bei Implantat B von null zu zwei Wochen post OP, während die Werte von A von vier bis acht Wochen am stärksten ansteigen (Diagramm 2). Die Biomechanik unterstreicht hier die Beobachtung der histologischen Auswertung, dass

Implantat A die größte Remodelling Rate etwas später als B erreicht. Auch wenn schon nach zwei Wochen B ($1022,3 \pm 260,8 \text{ Nmm}$) einen deutlich höheren durchschnittlichen Torquewert als A ($706,5 \pm 219,9 \text{ Nmm}$) zeigen kann, ist dieser unter dem Einfluss der Tatsache zu betrachten, dass A in der zwei Wochengruppe bei der Hälfte der eingesetzten Implantate einen niedrigeren Eindrehwert hatte. Vergleicht man die beiden Oberflächen in der vier Wochengruppe, so zeigt hier Typ B ein signifikant höheres maximales Drehmoment als A ($p=0,001$). In der acht Wochengruppe war eine Messung des maximalen Drehmoments nur bei Implantat A möglich, da bei Implantat B bei mehr als der Hälfte der Proben das Interface zwischen Innengewinde und Ausdrehinstrument zu schwach war.

5.5 Bestimmung der Implantatstabilität mittels RFA als Methode zum experimentellen Vergleich von Oberflächen von Dentalimplantaten in der frühen Einheilphase

Bei Betrachtung der Ergebnisse der Resonanzfrequenzanalyse fallen einem die Ergebnisse der vier Wochengruppe ins Auge (Diagramm 1). Sie waren deutlich niedriger als alle anderen in dieser Studie post mortem erhobenen ISQ sowohl bezüglich der Wochengruppen, als auch innerhalb der einzelnen Zeitintervalle. Außerdem lagen die durchschnittlichen Messwerte (Tabelle 9) der vier Wochengruppe bei beiden Implantattypen sehr eng beieinander ($A = 48,8 \pm 9,0$; $B = 49,3 \pm 12,1$). Diese Abweichungen von den Ergebnissen der anderen Zeitintervalle lassen sich dadurch erklären, dass bei den post mortem Proben der vier Wochengruppe eine andere Messmethode angewandt wurde. Der ISQ wurde nicht am intakten Schlachtbecken bestimmt sondern an den für die Histologie bestimmten, in Alkohol eingelegten Knochenwürfeln drei Tage nach der Tötung des Versuchstieres. Zur Messung wurden die Proben nicht in einen Schraubstock eingespannt, sondern mit einer Pinzette gehalten. Dadurch ist es sehr wahrscheinlich, dass an diesen Proben mittels RFA der Stabilitätsquotient bezüglich der Eigenfrequenz des Knochenwürfels ermittelt wurde, und nicht der ISQ. Dass es sich hier um ein gängiges Problem handelt zeigt sich auch in einer Studie von Bardyn et al.⁹⁶ der in seinen Versuchen zur RFA die Blöcke aus Knochenersatzmaterial mit einem Gewicht beschwert hatte, um zu vermeiden, dass der Block vibriert und die Eigenfrequenz des Blockes gemessen wurde. Dies würde auch erklären, warum die durchschnittlichen Werte der vier Wochengruppe unter einem ISQ von 50 liegen, aber trotzdem hohe Torque Werte in diesem Zeitintervall ermittelt werden konnten. Auch in der histologischen Auswertung wurden keine Hinweise gefunden, die eine derart instabile

Verankerung der Implantate in der vier Wochengruppe rechtfertigen könnten. Die Ergebnisse der vier Wochengruppe in der RFA müssen deshalb als wenig aussagekräftig beurteilt werden.

Im Zeitraum von zwei Wochen ($A = 78,0 \pm 2,8$) bis acht Wochen ($A = 78,0 \pm 12,1$) post OP, zeigt Implantat A in der RFA keinen Zugewinn an Stabilität. Sowohl in der Histomorphometrie, als auch bei den BIC Messungen in Lichtmikroskop und Elektronenmikroskop kann A zwischen zwei und acht Wochen einen deutlichen Zugewinn an Mineralisierung im periimplantäre Gewebe vorweisen. Der wohl deutlichste Zugewinn von Typ A ließ sich im Removal Torque Test nachweisen, der sich von einem maximalen Drehmoment von $706,5 \pm 219,9$ Nmm in der zwei Wochengruppe auf ein maximales Drehmoment von $1844,5 \pm 247,7$ Nmm in der acht Wochengruppe steigern konnte.

Bei Implantat B ergab sich aus den Werten der RFA ein starker Abfall des ISQ im Zeitraum von zwei Wochen ($B = 70,2 \pm 8,0$) bis acht Wochen post OP ($A = 60,4 \pm 3,3$). Genau wie Implantat A nimmt auch bei Implantat B in diesem Zeitraum in der Histomorphometrie, den BIC Messungen in Licht- und Elektronenmikroskop der periimplantäre Mineralisierungsgrad zu. Auch bei den Werten des Removal Torque Tests steigert sich das gemessene maximale Drehmoment von B deutlich von der zwei zur acht Wochengruppe.

Bei den Ergebnissen der Resonanzfrequenzanalyse (RFA) zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen A und B innerhalb der acht Wochengruppe ($A = 78,0 \pm 12,1$; $B = 60,4 \pm 3,3$). Hier hat Typ A einen signifikant höheren ISQ als Typ B ($p = 0,000$). Diese höhere Stabilität von A in der acht Wochengruppe ließ sich jedoch nicht bekräftigen, da in diesem Zeitintervall in keiner der zahlreichen weiteren Auswertungsmethoden signifikante Unterschiede zwischen A und B gefunden wurden.

Die RFA ist heutzutage eine bedeutend wichtige Methode zur Ermittlung der Primärstabilität und der Dokumentation der Stabilität von Dentalimplantaten im Verlauf der Einheilphase im Klinikalltag⁹⁷. Sie hat sich als nicht invasive Methode zur quantitativen Evaluierung der Osseointegration über einen längeren Zeitraum hin bewährt. Darüber hinaus scheint es möglich zu sein mit der RFA pathologische Veränderungen des periimplantären Knochens im Laufe der Einheilphase am Patienten zu beurteilen indem Veränderungen der Steifigkeit des Implantatkörpers im umgebenden Gewebe gemessen werden⁹⁸. So kann ein Stabilitätsverlust eines eingesetzten Implantates frühzeitig erkannt, und der optimale Zeitpunkt für die Belastung des Implantates für den Patienten genauer bestimmt werden.

Wie bereits beschrieben hängen die ISQ Werte von der Stabilität des Implantates im umliegenden Gewebe ab⁹⁷. Daraus könnte man, wie in einigen Publikationen⁹⁸ schließen, dass

die bei der RFA gemessenen Werte sich im histologisch ermittelten BIC widerspiegeln müssten. Es erscheint logisch, dass ein ansteigender BIC eine ansteigende Stabilität im Gewebe verursachen müsste und dementsprechend auch eine bessere Stabilität am Knochen-Implantat-Interface vorliegen sollte. Auch sollte man meinen, dass ein mittels RFA als stabiler befundenes Implantat auch im Torquetest die höheren Ausdrehwerte haben würde als eines mit niedrigerem ISQ. In der vorliegenden Studie wichen die Ergebnisse der RFA allerdings sehr deutlich von denen von BIC-Messung, Histomorphometrie und Torque ab.

Die zu dieser Problematik veröffentlichte Literatur wirkt in sich widersprüchlich. So finden sich Studien, in denen ein Zusammenhang zwischen ISQ Werten und BIC Messergebnissen gefunden wurde^{33,99}, der in anderen Publikationen jedoch nicht nachvollzogen werden konnte⁶². Um eine umfassende Aussage über die Verhältnisse am periimplantären Knochen machen zu können muss die Methodik der RFA weiter verbessert werden⁹⁹.

Ein Zusammenhang zwischen Struktur des Knochengewebes und ISQ Werten wird hingegen befürwortet¹⁰⁰⁻¹⁰². Eine mögliche Erklärung für den mangelhaften Zusammenhang zwischen BIC und RFA könnte demnach sein, dass sich der ISQ Wert eher an der Dicke der Kortikalis orientiert als am Mineralisierungsgrad des Knochengewebes. So zeigte sich in einer klinischen Studie eine signifikante Korrelation zwischen Dicke der Kortikalis und der Resonanzfrequenzanalyse¹⁰³. Die RFA scheint außerdem die Dichte der Kortikalis besser zu beschreiben, als die der Spongiosa, da der Stimulus für die Schwingung von der Kortikalis ausgeht^{96,104}. Der auch in der vorliegenden Studie festgestellte sowie in der Literatur beschriebene¹⁰⁵ fehlende Zusammenhang zwischen RFA und Torquetest wird ebenfalls über die Qualität des kortikalen Knochens begründet. So hängt das Ergebnis der RFA eher von der Dichte des kortikalen Knochens ab, während die Removal Torque Werte eher von der Dichte der Spongiosa abhängen⁹⁶. Diese beiden biomechanischen Testmethoden scheinen also sensitiv für Veränderungen der Knochendichte in unterschiedlichen Strukturbereichen des Knochengewebes zu sein. In der vorliegenden Studie wurde im Lichtmikroskop der BIC für die Kortikalis jeweils gesondert ermittelt. Hier konnte jedoch nicht bestätigt werden, dass die RFA eher die Verhältnisse in der Kortikalis beschreibt. In der acht Wochengruppe war in der RFA Typ A ($78,0 \pm 12,1$) signifikant höher als Typ B ($60,4 \pm 3,3$), in der Messung von BIC cortex waren die Ergebnisse genau umgekehrt. Hier hatte in der acht Wochengruppe Typ A einen BIC cortex von $48,6 \pm 18,5\%$ während Typ B mit einem BIC cortex von $70,6 \pm 8,2\%$ deutlich darüber lag.

Es gibt Literatur in der beschrieben wird, dass die Beschaffenheit der Oberfläche eines Implantats den mittels RFA erhaltenen Stabilitätsquotienten beeinflusst. Es konnte gezeigt

werden, dass Werte von funkenanodisierten Dentalimplantaten generell höher liegen, als die von sandgestrahlt und säuregeätzten¹⁰⁶. Dabei wird die These verfolgt, dass die RFA Werte je nach Dicke der Oxidschicht auf der Implantatoberfläche ansteigen, da die Dicke der Oxidschicht die Nanostruktur und Rauigkeit des Implantats beeinflusst. Da Implantat Typ A eine funkenanodisierte Oberfläche besitzt und damit auch die dickere Oxidschicht, würde das unsere Ergebnisse der RFA teilweise erklären. Die Publikationen hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen Rauigkeit der Oberfläche und RFA sind jedoch sehr widersprüchlich. So konnten Sennerby und Meredith¹⁰⁷ nicht bestätigen, dass die Rauigkeit den ISQ beeinflusst. In Studien, in denen die These aufgestellt wird dass veränderte Oberflächeneigenschaften die Messwerte der RFA beeinflussen¹⁰⁸ wird nicht beachtet, dass die Testimplantate im jeweiligen Versuch oft nicht formgleich sind. Das Ergebnis der RFA wird massiv beeinflusst durch die Geometrie des Implantates¹⁰⁹, deswegen sollten Schlussfolgerungen aus diesen Studien vorsichtig beurteilt werden.

In der vorliegenden Studie hatte Implantat Typ A ein anders gefertigtes Innengewinde als Typ B. So erwies sich im Torque Test Typ A als das Implantat mit der stärkeren Verbindung mit dem Ausdrehinstrument als Typ B. Dies führt zur Überlegung, dass es möglich sein könnte, dass diese Verbindung nicht nur die Biomechanik des Ausdrehversuchs, sondern auch die der RFA beeinflusst haben könnte. Der in das Innengewinde eingeschraubte Smartpeg überträgt letztendlich die Frequenz des getesteten Implantats auf die Sonde des Messgeräts. Die am Interface des Innengewindes stabilere Verbindung, die in dieser Studie Typ A im Torquetest bewiesen hat, überträgt vielleicht auch die gemessene Frequenz genauer und würde somit einen Vergleich zwischen A und B erschweren. Auch in der Literatur wird es als kritisch bewertet, Messungen mit unterschiedlichen Smartpegs untereinander zu vergleichen. Die RFA scheint in erheblichem Masse durch den eingesetzten Smartpeg beeinflusst zu werden und scheint deshalb zum Vergleich unterschiedlicher Implantatsysteme nur bedingt geeignet zu sein⁹. In der vorliegenden Studie hatte, nach Betrachtung der Ergebnisse aller Auswertungsmethoden und aufgrund der Tatsache, dass nur die Ergebnisse der RFA vom Trend aller anderen Versuche abwichen wohl die Biomechanik der Implantat-Smartpeg Verbindung einen größeren Einfluss auf den ISQ als Unterschiede zwischen den beiden Oberflächen. Die RFA war in dieser Studie nicht geeignet um den Unterschied zwischen zwei chemisch modifizierten Oberflächen zu beleuchten und scheint von zu vielen äußeren Faktoren abhängig zu sein um einen diskreten Vergleich derart sensibler Unterschiede zu ermöglichen. Die biologischen Parameter, die bei der Ermittlung des ISQ eine Rolle spielen sind noch zu wenig erforscht¹¹⁰. Daher bleibt die RFA in experimentellen Studien eine

kontroverse Methode und ihr genauer Zusammenhang zu Faktoren wie der Knochendichte konnte noch nicht genau nachvollzogen werden^{111,112}. Bei der Beurteilung von Studien, die Implantatsysteme nur anhand der Ergebnisse von RFA und Torque beurteilen sollte man deswegen vorsichtig sein¹⁰.

5.6 Beurteilung der Ergebnisse hinsichtlich des Ziels der Studie

Ziel dieser Studie am Schafmodell war es, anhand von Dentalimplantaten gleicher Form und Größe eine hydrophile, sandgestrahl-säuregeätzte Oberfläche mit einer feinkristallinen, funkenanodisierten Titanoxid Oberfläche zwei, vier und acht Wochen nach Implantation zu vergleichen. Im Verlauf der Versuche zeigten sich sowohl die Resonanzfrequenzanalyse als auch die Ermittlung des BIC mittels μ CT als für diese Studie unzuverlässige Untersuchungsmethoden. Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse von histologischer und biomechanischer Auswertung keine herausragenden Unterschiede zwischen den getesteten Oberflächen bezüglich der Osseointegration im ovinen Beckenknochen. Da das Makrodesign der beurteilten Implantate identisch war, war es möglich ausschließlich den Einfluss der jeweiligen Oberfläche auf die Osseointegration zu untersuchen. Lediglich in der vier Wochengruppe zeigte die hydrophile Oberfläche einen signifikant höheren Wert im Removal Torque Test als die funkenanodisierte Oberfläche. Obwohl die verstärkte Osseointegration der hydrophilen Oberfläche im biomechanischen Aspekt der Studie teilweise bestätigt werden konnte, konnten die zahlreichen histologischen Analyseverfahren diese Behauptung nicht hinreichend untermauern. Weiterführende Untersuchungen in Histomorphometrie und Elektronenmikroskopie könnten einen aufschlussreicheren Einblick in die Vorgänge am Interface von Knochen und Implantat in der frühen Einheilphase bieten, da dies zum gegenwärtigen Zeitpunkt nur unzureichend der Fall ist. Es konnte jedoch in allen angewandten Auswertungsmethoden eindrucklich gezeigt werden, dass beide Oberflächen nach acht Wochen Einheilphase einheitliche Ergebnisse hinsichtlich der Bildung von neuem Knochen am Implantat vorweisen.

6 Literaturverzeichnis

1. Kersten J: <http://www.implantate.com/zahnimplantat.php>, in Zahedi B (ed) implantate.com - die unabhängige Infoseite über Zahnimplantate. Ratingen, Germany 2000-2010.
2. Elias CN, Meirelles L: Improving osseointegration of dental implants. *Expert Rev Med Devices* 7:241-256, 2010.
3. Suzuki M, Calasans-Maia MD, Marin C, et al: Effect of surface modifications on early bone healing around plateau root form implants: an experimental study in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg* 68:1631-1638, 2010.
4. Asbjorn J: Osseointegration and dental implants (ed 1). Ames W-B, 2009.
5. Carmagnola D, Abati S, Addis A, et al: Time sequence of bone healing around two implant systems in minipigs: preliminary histologic results. *Int J Periodontics Restorative Dent* 29:549-555, 2009.
6. Gottlow: Biomechanical and Histologic Evaluation of the TiUnite and Osseotite Implant Surfaces in Dogs. *Applied Osseointegration Research* 1:28-30, 2000.
7. Sennerby: Insertion Torque and RFA Analysis of TiUnite and SLA Implants. *Applied Osseointegration Research* 1:31-33, 2000.
8. De Maezta MA, Braceras I, Alava JI, et al: Improvement of osseointegration of titanium dental implant surfaces modified with CO ions: a comparative histomorphometric study in beagle dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg* 37:441-447, 2008.
9. Al-Nawas B, Groetz KA, Goetz H, et al: Comparative histomorphometry and resonance frequency analysis of implants with moderately rough surfaces in a loaded animal model. *Clin Oral Implants Res* 19:1-8, 2008.
10. Al-Nawas B, Wagner W, Grotz KA: Insertion torque and resonance frequency analysis of dental implant systems in an animal model with loaded implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 21:726-732, 2006.
11. Urist MR: Bone: formation by autoinduction. 1965. *Clin Orthop Relat Res*:4-10, 2002.
12. E.Davies J: Understanding Peri-Implnat Endosseus Healing. *Journal of dental education* 67:932-949, 2003.
13. Raghavendra S WM, Taylor TD: Early wound healing around endosseus implants: a review of the literature. *Int j Oral Maxillofac implants*:425-431, 2005.
14. Degasne I, Basle MF, Demais V, et al: Effects of roughness, fibronectin and vitronectin on attachment, spreading, and proliferation of human osteoblast-like cells (Saos-2) on titanium surfaces. *Calcif Tissue Int* 64:499-507, 1999.
15. Lancet: Fibronectins and vitronectin. *Lancet* 1:474-476, 1989.
16. Kennedy SB, Washburn NR, Simon CG, Jr., et al: Combinatorial screen of the effect of surface energy on fibronectin-mediated osteoblast adhesion, spreading and proliferation. *Biomaterials* 27:3817-3824, 2006.
17. Roach P, Farrar D, Perry CC: Interpretation of protein adsorption: surface-induced conformational changes. *J Am Chem Soc* 127:8168-8173, 2005.
18. Stock M: Underlying mechanisms of endosseous integration at the material-biosystem interface. *Dentsply Friadent*:2-8, 2003.
19. Urist MR, Mikulski A, Lietze A: Solubilized and insolubilized bone morphogenetic protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76:1828-1832, 1979.
20. Albrektsson T, Johansson C: Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J* 10 Suppl 2:S96-101, 2001.
21. Schwartz Z, Lohmann CH, Oefinger J, et al: Implant surface characteristics modulate differentiation behavior of cells in the osteoblastic lineage. *Adv Dent Res* 13:38-48, 1999.

22. Rajpurohit R, Koch CJ, Tao Z, et al: Adaptation of chondrocytes to low oxygen tension: relationship between hypoxia and cellular metabolism. *J Cell Physiol* 168:424-432, 1996.
23. Schenk RK, Buser D: Osseointegration: a reality. *Periodontol* 2000 17:22-35, 1998.
24. Frost HM: The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part II. *Clin Orthop Relat Res*:294-309, 1989.
25. Frost HM: The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I. *Clin Orthop Relat Res*:283-293, 1989.
26. Albrektsson T: Principles of osseointegration. London, 1995.
27. Long M, Rack HJ: Titanium alloys in total joint replacement--a materials science perspective. *Biomaterials* 19:1621-1639, 1998.
28. Schmidt C, Ignatius AA, Claes LE: Proliferation and differentiation parameters of human osteoblasts on titanium and steel surfaces. *J Biomed Mater Res* 54:209-215, 2001.
29. Branemark PI, Hansson BO, Adell R, et al: Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl* 16:1-132, 1977.
30. Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, et al: Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand* 52:155-170, 1981.
31. Zarb A: Osseointegration - A requiem for the periodontal ligament? - An editorial. *Int J Periodont Rest Dentistry* 11:88-91, 1991.
32. Albrektsson T: Hard tissue implant interface. *Aust Dent J* 53 Suppl 1:S34-38, 2008.
33. Gedrange T, Hietschold V, Mai R, et al: An evaluation of resonance frequency analysis for the determination of the primary stability of orthodontic palatal implants. A study in human cadavers. *Clin Oral Implants Res* 16:425-431, 2005.
34. Atsumi M, Park SH, Wang HL: Methods used to assess implant stability: current status. *Int J Oral Maxillofac Implants* 22:743-754, 2007.
35. Buser D, Schenk RK, Steinemann S, et al: Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 25:889-902, 1991.
36. Cook SD, Thomas KA, Kay JF, et al: Hydroxyapatite-coated titanium for orthopedic implant applications. *Clin Orthop Relat Res*:225-243, 1988.
37. Schwartz Z, Amir D, Boyan BD, et al: Effect of glass ceramic and titanium implants on primary calcification during rat tibial bone healing. *Calcif Tissue Int* 49:359-364, 1991.
38. Albrektsson T, Wennerberg A: Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *Int J Prosthodont* 17:536-543, 2004.
39. Albrektsson T, Wennerberg A: Oral implant surfaces: Part 2--review focusing on clinical knowledge of different surfaces. *Int J Prosthodont* 17:544-564, 2004.
40. Le Guehennec L, Soueidan A, Layrolle P, et al: Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater* 23:844-854, 2007.
41. Rupp F, Scheideler L, Olshanska N, et al: Enhancing surface free energy and hydrophilicity through chemical modification of microstructured titanium implant surfaces. *J Biomed Mater Res A* 76:323-334, 2006.
42. Rupp F, Scheideler L, Rehbein D, et al: Roughness induced dynamic changes of wettability of acid etched titanium implant modifications. *Biomaterials* 25:1429-1438, 2004.
43. Zhao G, Schwartz Z, Wieland M, et al: High surface energy enhances cell response to titanium substrate microstructure. *J Biomed Mater Res A* 74:49-58, 2005.

44. Pilliar: Quantitative evaluation of the effect of movement at a porous coated implant-bone interface. Toronto, University of Toronto Press, 1991.
45. De Smet E, Jaecques SV, Jansen JJ, et al: Effect of constant strain rate, composed of varying amplitude and frequency, of early loading on peri-implant bone (re)modelling. *J Clin Periodontol* 34:618-624, 2007.
46. Meredith N: Assessment of implant stability as a prognostic determinant. *Int J Prosthodont* 11:491-501, 1998.
47. Coelho PG, Granjeiro JM, Romanos GE, et al: Basic research methods and current trends of dental implant surfaces. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 88:579-596, 2009.
48. Puleo DA, Thomas MV: Implant surfaces. *Dent Clin North Am* 50:323-338, v, 2006.
49. Albrektsson T, Sennerby L: State of the art in oral implants. *J Clin Periodontol* 18:474-481, 1991.
50. Urban RM, Jacobs JJ, Tomlinson MJ, et al: Dissemination of wear particles to the liver, spleen, and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement. *J Bone Joint Surg Am* 82:457-476, 2000.
51. Park JY, Davies JE: Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. *Clin Oral Implants Res* 11:530-539, 2000.
52. Trisi P, Lazzara R, Rebaudi A, et al: Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. *J Periodontol* 74:945-956, 2003.
53. Brodbeck WG, Patel J, Voskerician G, et al: Biomaterial adherent macrophage apoptosis is increased by hydrophilic and anionic substrates in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:10287-10292, 2002.
54. Yahyapour N, Eriksson C, Malmberg P, et al: Thrombin, kallikrein and complement C5b-9 adsorption on hydrophilic and hydrophobic titanium and glass after short time exposure to whole blood. *Biomaterials* 25:3171-3176, 2004.
55. Baier RE, Meyer AE, Natiella JR, et al: Surface properties determine bioadhesive outcomes: methods and results. *J Biomed Mater Res* 18:327-355, 1984.
56. Buser D, Broggini N, Wieland M, et al: Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *J Dent Res* 83:529-533, 2004.
57. Schwarz F, Ferrari D, Herten M, et al: Effects of surface hydrophilicity and microtopography on early stages of soft and hard tissue integration at non-submerged titanium implants: an immunohistochemical study in dogs. *J Periodontol* 78:2171-2184, 2007.
58. Schwarz F, Sculean A, Wieland M, et al: Effects of hydrophilicity and microtopography of titanium implant surfaces on initial supragingival plaque biofilm formation. A pilot study. *Mund Kiefer Gesichtschir* 11:333-338, 2007.
59. Glauser R, Ree A, Lundgren A, et al: Immediate occlusal loading of Branemark implants applied in various jawbone regions: a prospective, 1-year clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 3:204-213, 2001.
60. Glauser R, Lundgren AK, Gottlow J, et al: Immediate occlusal loading of Branemark TiUnite implants placed predominantly in soft bone: 1-year results of a prospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 5 Suppl 1:47-56, 2003.
61. Ivanoff CJ, Widmark G, Johansson C, et al: Histologic evaluation of bone response to oxidized and turned titanium micro-implants in human jawbone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 18:341-348, 2003.
62. Rocci A, Martignoni M, Burgos PM, et al: Histology of retrieved immediately and early loaded oxidized implants: light microscopic observations after 5 to 9 months of loading in the posterior mandible. *Clin Implant Dent Relat Res* 5 Suppl 1:88-98, 2003.
63. Zechner W, Tangl S, Furst G, et al: Osseous healing characteristics of three different implant types. *Clin Oral Implants Res* 14:150-157, 2003.

64. Brunette DM, Chehroudi B: The effects of the surface topography of micromachined titanium substrata on cell behavior in vitro and in vivo. *J Biomech Eng* 121:49-57, 1999.
65. Davies JE: Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 67:932-949, 2003.
66. Wennerberg A, Albrektsson T: Suggested guidelines for the topographic evaluation of implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants* 15:331-344, 2000.
67. Sul YT, Johansson CB, Jeong Y, et al: Oxidized implants and their influence on the bone response. *J Mater Sci Mater Med* 12:1025-1031, 2001.
68. Sul YT, Johansson C, Wennerberg A, et al: Optimum surface properties of oxidized implants for reinforcement of osseointegration: surface chemistry, oxide thickness, porosity, roughness, and crystal structure. *Int J Oral Maxillofac Implants* 20:349-359, 2005.
69. Xiropaidis AV, Qahash M, Lim WH, et al: Bone-implant contact at calcium phosphate-coated and porous titanium oxide (TiUnite)-modified oral implants. *Clin Oral Implants Res* 16:532-539, 2005.
70. Huang YH, Xiropaidis AV, Sorensen RG, et al: Bone formation at titanium porous oxide (TiUnite) oral implants in type IV bone. *Clin Oral Implants Res* 16:105-111, 2005.
71. Sul YT, Johansson CB, Albrektsson T: Oxidized titanium screws coated with calcium ions and their performance in rabbit bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 17:625-634, 2002.
72. Schupbach P, Glauser R, Rocci A, et al: The human bone-oxidized titanium implant interface: A light microscopic, scanning electron microscopic, back-scatter scanning electron microscopic, and energy-dispersive x-ray study of clinically retrieved dental implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 7 Suppl 1:S36-43, 2005.
73. Liebschner MA: Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials* 25:1697-1714, 2004.
74. Martini L, Fini M, Giavaresi G, et al: Sheep model in orthopedic research: a literature review. *Comp Med* 51:292-299, 2001.
75. Nunamaker DM: Experimental models of fracture repair. *Clin Orthop Relat Res*:S56-65, 1998.
76. Aerssens J, Boonen S, Lowet G, et al: Interspecies differences in bone composition, density, and quality: potential implications for in vivo bone research. *Endocrinology* 139:663-670, 1998.
77. Voelter: In vivo Studie an Schafen zum Vergleich von Dentalimplantaten im Hinblick auf ihre Osseointegration eines Standardzahnimplantates. Doctor: Vetsuisse Faculty, University of Zurich, 2007.
78. Biermeier: Vergleich unterschiedlicher Methoden der Implantatbettpräparation und ihr Einfluss auf die Osseointegration eines Standardzahnimplantates. Doctor: Vetsuisse Faculty, University of Zurich, 2009.
79. v.Salis-Soglio: Früh- und Spätuntersuchung einer neuen Oberflächenbehandlung mit Polyphosphonaten auf Dentalimplantaten - Eine experimentelle Studie an Schafen. Doctor: Vetsuisse Faculty, University of Zurich, 2010.
80. Lee JE, Heo SJ, Koak JY, et al: Healing response of cortical and cancellous bone around titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 24:655-662, 2009.
81. Slaets E, Naert I, Carmeliet G, et al: Early cortical bone healing around loaded titanium implants: a histological study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res* 20:126-134, 2009.
82. Slaets E, Carmeliet G, Naert I, et al: Early trabecular bone healing around titanium implants: a histologic study in rabbits. *J Periodontol* 78:510-517, 2007.

83. Sennerby L, Thomsen P, Ericson LE: A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 7:62-71, 1992.
84. Pearce AI, Richards RG, Milz S, et al: Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater* 13:1-10, 2007.
85. Turner RT, Maran A, Lotinun S, et al: Animal models for osteoporosis. *Rev Endocr Metab Disord* 2:117-127, 2001.
86. Kimmel DB, Jee WS: A quantitative histologic study of bone turnover in young adult beagles. *Anat Rec* 203:31-45, 1982.
87. Xu B, Zhang J, Brewer E, et al: Osterix enhances BMSC-associated osseointegration of implants. *J Dent Res* 88:1003-1007, 2009.
88. Maimoun L, Brennan TC, Badoud I, et al: Strontium ranelate improves implant osseointegration. *Bone* 46:1436-1441, 2009.
89. Schouten C, Meijer GJ, van den Beucken JJ, et al: The quantitative assessment of peri-implant bone responses using histomorphometry and micro-computed tomography. *Biomaterials* 30:4539-4549, 2009.
90. Stoppie N, van der Waerden JP, Jansen JA, et al: Validation of microfocus computed tomography in the evaluation of bone implant specimens. *Clin Implant Dent Relat Res* 7:87-94, 2005.
91. Ohtsu A, Kusakari H, Maeda T, et al: A histological investigation on tissue responses to titanium implants in cortical bone of the rat femur. *J Periodontol* 68:270-283, 1997.
92. Slaets E, Carmeliet G, Naert I, et al: Early cellular responses in cortical bone healing around unloaded titanium implants: an animal study. *J Periodontol* 77:1015-1024, 2006.
93. Lai HC, Zhuang LF, Zhang ZY, et al: Bone apposition around two different sandblasted, large-grit and acid-etched implant surfaces at sites with coronal circumferential defects: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 20:247-253, 2009.
94. Kieswetter K, Schwartz Z, Dean DD, et al: The role of implant surface characteristics in the healing of bone. *Crit Rev Oral Biol Med* 7:329-345, 1996.
95. Scheideler L RF, Wieland M, Geis-Gerstorfer J: Storage conditions of titanium implants influence molecular and cellular interactions, in *Int Assoc Dent Res (IADR) 83rd General Session, Vol. Baltimore, MD, J Dent Res* 2005; 84(Spec Iss A): abstract number 870., 2005.
96. Bardyn T, Gedet P, Hallermann W, et al: Quantifying the influence of bone density and thickness on resonance frequency analysis: an in vitro study of biomechanical test materials. *Int J Oral Maxillofac Implants* 24:1006-1014, 2009.
97. De Smet E, Jaecques SV, Wevers M, et al: Effect of controlled early implant loading on bone healing and bone mass in guinea pigs, as assessed by micro-CT and histology. *Eur J Oral Sci* 114:232-242, 2006.
98. Schliephake H, Sewing A, Aref A: Resonance frequency measurements of implant stability in the dog mandible: experimental comparison with histomorphometric data. *Int J Oral Maxillofac Surg* 35:941-946, 2006.
99. Nkenke E, Hahn M, Weinzierl K, et al: Implant stability and histomorphometry: a correlation study in human cadavers using stepped cylinder implants. *Clin Oral Implants Res* 14:601-609, 2003.
100. Bischof M, Nedir R, Szmukler-Moncler S, et al: Implant stability measurement of delayed and immediately loaded implants during healing. *Clin Oral Implants Res* 15:529-539, 2004.
101. Balshi SF, Allen FD, Wolfinger GJ, et al: A resonance frequency analysis assessment of maxillary and mandibular immediately loaded implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 20:584-594, 2005.

102. Ostman PO, Hellman M, Sennerby L: Direct implant loading in the edentulous maxilla using a bone density-adapted surgical protocol and primary implant stability criteria for inclusion. *Clin Implant Dent Relat Res* 7 Suppl 1:S60-69, 2005.
103. Miyamoto I, Tsuboi Y, Wada E, et al: Influence of cortical bone thickness and implant length on implant stability at the time of surgery--clinical, prospective, biomechanical, and imaging study. *Bone* 37:776-780, 2005.
104. Meredith N, Book K, Friberg B, et al: Resonance frequency measurements of implant stability in vivo. A cross-sectional and longitudinal study of resonance frequency measurements on implants in the edentulous and partially dentate maxilla. *Clin Oral Implants Res* 8:226-233, 1997.
105. Akkocaoglu M, Uysal S, Tekdemir I, et al: Implant design and intraosseous stability of immediately placed implants: a human cadaver study. *Clin Oral Implants Res* 16:202-209, 2005.
106. Sul YT, Johansson C, Albrektsson T: A novel in vivo method for quantifying the interfacial biochemical bond strength of bone implants. *J R Soc Interface*, 2009.
107. Sennerby L, Meredith N: Implant stability measurements using resonance frequency analysis: biological and biomechanical aspects and clinical implications. *Periodontol* 2000 47:51-66, 2008.
108. Sul YT, Jonsson J, Yoon GS, et al: Resonance frequency measurements in vivo and related surface properties of magnesium-incorporated, micropatterned and magnesium-incorporated TiUnite, Osseotite, SLA and TiOblast implants. *Clin Oral Implants Res* 20:1146-1155, 2009.
109. O'Sullivan D, Sennerby L, Meredith N: Measurements comparing the initial stability of five designs of dental implants: a human cadaver study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2:85-92, 2000.
110. da Cunha HA, Francischone CE, Filho HN, et al: A comparison between cutting torque and resonance frequency in the assessment of primary stability and final torque capacity of standard and TiUnite single-tooth implants under immediate loading. *Int J Oral Maxillofac Implants* 19:578-585, 2004.
111. Zix J, Kessler-Liechti G, Mericske-Stern R: Stability measurements of 1-stage implants in the maxilla by means of resonance frequency analysis: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 20:747-752, 2005.
112. Degidi M, Perrotti V, Piattelli A, et al: Mineralized bone-implant contact and implant stability quotient in 16 human implants retrieved after early healing periods: a histologic and histomorphometric evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 25:45-48.

7 Anhang

7.1 Abbildungen

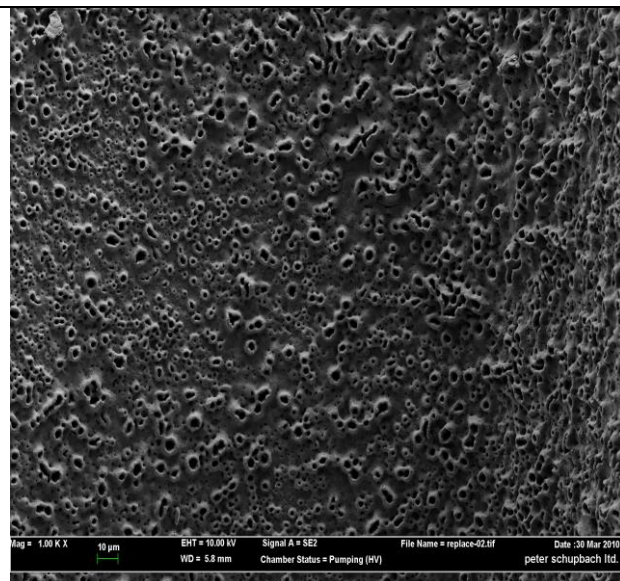


Abb. 1: TiUnite Oberfläche (A)
(Elektronenmikroskop) Bild Schüpbach

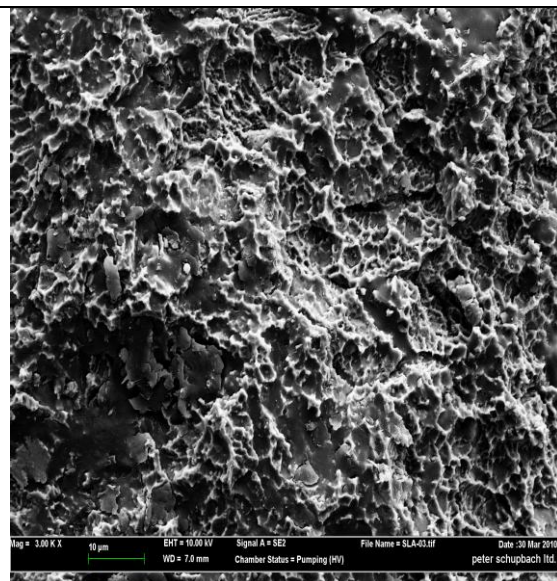


Abb. 2: SLActive Oberfläche (B)
(Elektronenmikroskop) Bild Schüpbach

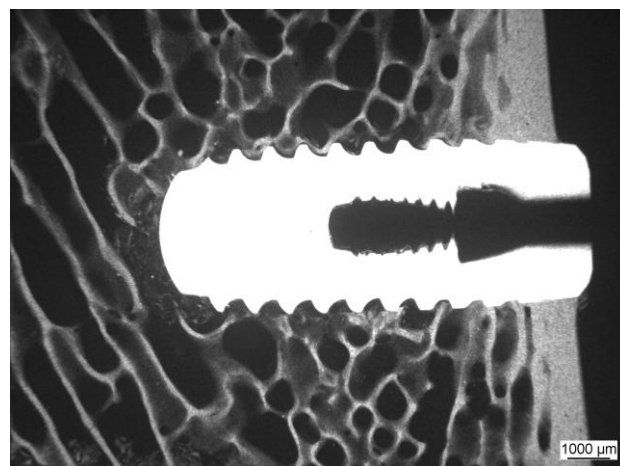


Abb. 3: Mikroradiographie null Wochengruppe,
Kadaverknochen



Abb. 4: Röntgenaufnahme
Schlachtknochen 8 Wochengruppe



Abb. 5: Lagerung des Tieres zur Operation der rechten Beckenhälfte



Abb. 6: Schlachtknochen einer Beckenhälfte mit bereits freigelegten Implantaten

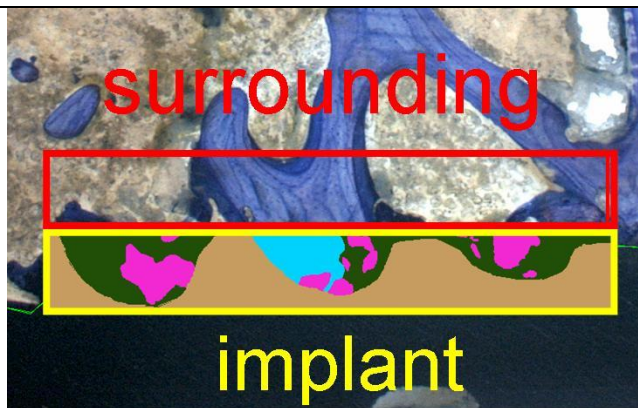


Abb. 7: Histomorphometrie, Messbereich im implantatnahen und implantatfernen Rechteck



Abb. 8: Messung BIC am Toluidinblau gefärbten Dickschnitt, Einteilung in die verschiedenen Sektoren

7.2 Abkürzungen

OP	Operation
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
s.c.	subkutan
RFA	Resonanzfrequenzanalyse
BIC	bone-to-implant contact, Knochen-Implantat Kontaktlinie
BIC	trab BIC im spongiösen Anteil des Knochengewebes
LM	Lichtmikroskop
BSEM	backscattered electrone microscope
μCT	Mikrocomputertomograph
ISQ	Implantatstabilitätsquotient
MMA	Methylmethacrylat
n.a.	not available, nicht verfügbar
Abb.:	Abbildung
Tab.	Tabelle

8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei allen Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Brigitte von Rechenberg für das Überlassen dieses Projekts und ihre ausgezeichnete Unterstützung während meines Jahres in Zürich. Brigitte, danke, dass ich von Dir lernen durfte.

Bei Dr. Stephen Ferguson aus dem ARTORG Center in Bern bedanke ich mich sehr herzlich für die Übernahme des Korreferates.

Ich danke Dr. Stefan Stübinger für die kompetente Betreuung dieses Projekts und seiner im wahrsten Sinne des Wortes „unermüdlichen“ Unterstützung für mich, besonders auf den letzten Metern vor dem Ziel. Diese Dissertation entstand unter seiner Leitung.

Prof. Dr. Peter Schüpbach PhD, für die vielen Stunden Arbeit, die er und sein Team in dieses Projekt investiert haben. Danke Peter, dass du mir soviel Geduld entgegen gebracht hast und ich immer auf dich zählen konnte!

Der Firma Nobel Biocare danke ich für die Bereitstellung der Implantate und der angenehmen Zusammenarbeit, insbesondere Yvo Dirix PhD.

Alexander Bürki aus dem ARTORG Center in Bern danke ich für seine Hilfe und hervorragende Arbeit bei der Analyse der biomechanischen Versuche im Rahmen dieser Dissertation.

Ganz besonders möchte ich Käthi Kämpf für ihre Unterstützung und Freundschaft danken.

Dem ganzen Team der MSRU danke ich für die schöne und lustige Zeit in der Schweiz. Was sind wir doch für ein unglaublich tolles Team, es gab wirklich nichts das wir nicht gemeinsam schaffen konnten!

Allen Mitarbeitern des Tierspitals danke ich für ihre herzliche Unterstützung für uns Doktoranden und für die viele Arbeit, die sie täglich für uns verrichten.

Dr. Sophia Johler und Dr. Alexander Ilic, ohne deren Unterstützung in so vieler Hinsicht diese Dissertation niemals zustande gekommen wäre. Ich werde euch ganz schrecklich vermissen!

Special thanks to my fellow student from Egypt, the Grand Prize Winner, Hypnoto A.D., for all the endless walks on the beach towards the horizon, all glory to Hypnoto A.D.!

Bei meiner ganzen Familie möchte ich mich bedanken für Ihre Unterstützung in den ganzen letzten Jahren.

Meinem Bruder Markus Ernst möchte ich dafür danken, dass er seit unseren Zeiten mit Sterni und Saskia immer mein Verbündeter war.

Ich danke meiner Mama Ingrid Ernst, auf deren Unterstützung ich mich auch in schwierigen Zeiten immer verlassen kann und die mich durch ihr Vorbild gelehrt hat niemals aufzugeben. Meinem Papa Manfred Ernst danke ich, dass er mir vermittelt hat, dass nichts unmöglich ist und dass Träume dazu da sind, umgesetzt zu werden. Ich wünschte, dass er diese Danksagung lesen könnte.

Lebenslauf

Name	Sabrina Ernst
Geburtsdatum	2.12.1982
Geburtsort	München, Deutschland
Nationalität	deutsch

Akademische Laufbahn:

1993-2002	Pestalozzi-Gymnasium, München, Deutschland
2002	Abitur
2002-2008	Studium der Veterinärmedizin, Ludwig-Maximilians Universität München
2008	Erhalt der Approbation als Tierärztin
2008-2009	Anstellung als Assistenztierärztin in der Pferdepraxis Dr. Weber, Deutschland
2009-2010	Promotion an der Universität Zürich, Pferdeklinik der Vetsuisse Fakultät, MusculoSkeletalResearchUnit (MSRU)
2010	Internship Philip Leverhulme Equine Hospital, School of Veterinary Science, University of Liverpool, Großbritannien